

Digitized by

Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

THE UNIVERSITY

OF ILLINOIS

LIBRARY

615.05

ZE

v. 32

NATURAL
HISTORY
BIOLOGY

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Bail**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Breinl**, Liverpool, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Basel, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Hamburg, **M. Fleker**, Berlin, **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Frosch**, Berlin, **M. v. Gruber**, München, **L. Haedel**, Berlin-Dahlem, **M. Hahn**, Freiburg i. B., **A. Hefster**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **K. Kißkalt**, Kiel, **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Frankfurt a. M., **W. Kruse**, Leipzig, **K. Landsteiner**, Haag, **C. Levaditi**, Paris, **L. v. Liebermann**, Budapest, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **L. Michaelis**, Berlin, **Mießner**, Hannover, **C. Moreschi**, Sassari, **J. Morgenroth**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. von Ostertag**, Berlin, **R. Otto**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien, **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **P. Schmidt**, Halle a. S., **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Bern, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. v. Wassermann**, Berlin, **W. Weichardt**, Erlangen, **E. Weil**, Prag, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER
(Greifswald.)

R. KRAUS
(Sao Paolo.)

H. SACHS
(Heidelberg.)

P. UHLENHUTH
(Marburg a. L.)

Zweilunddreißigster Band

Mit 27 Abbildungen und 8 Kurven im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1921

615705

ZE

V.32

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Bessau, G. , Zur Entstehung der paradoxen Diphtheriebouillonreaktion beim Menschen. Entgegnung auf die Mitteilung von Gröer und Kassowitz: Ueber das Wesen und die Bedeutung der paradoxen Hautempfindlichkeit auf intrakutane Einverleibung von Diphtherietoxin. Diese Zeitschrift, Bd. 30	558
Bleber, Walter , Experimentelles zur Diphtherieprophylaxe	466
Dold, Hermann , Ist das Anaphylatoxin charakterisiert durch eine eigenartige Flockungsphase des Serums? Erwiderung auf die Ausführungen von Friedberger und Putter (diese Zeitschr., Bd. 30, Heft 3/4, p. 321). Mit 1 Abbildung im Text	203
Dold, H. , Bemerkungen zu vorstehender Entgegnung von E. Friedberger und E. Putter	225
Felke , Untersuchungen über die Rolle der Albumine und Globuline in der serologischen Luesdiagnostik	137
Friedberger, E., und Putter, E. , „Anaphylatoxin und Serumflockung“. Entgegnung auf vorstehende Erwiderung von Hermann Dold	218
Friedberger, E., und Putter, E. , Sachliche Berichtigung hierzu	226
Kirschner, Leopold , siehe Russ, Viktor K.	
Lange, Arthur , Zur Frage der Hitzebeständigkeit der gebundenen Antikörper	449
Lange, Ludwig , Ueber das Friedmannsche Tuberkulose-Schutz- und -Heilmittel. I. Mitteilung: Literarisch-kritische und experimentelle Untersuchungen über den Friedmannschen Heil- und Schutzimpfstoff gegen die Tuberkulose	229
Lindenberg, Ad., und Pestana, Bruno Rangel , Chemotherapeutische Versuche mit Fetten an Kulturen säurefester Bacillen	66
Michaelis, L. , Die Prüfung der Alkalität in Nährböden. Mit 1 Abbildung im Text	194
Nagasawa, D. , Experimentelle Untersuchungen über Milzbrandinfektion. Superinfektion und Depressionsimmunität	355
Pestana, Bruno Rangel , siehe Lindenberg, Ad.	
Petrushky, I. , Bemerkung zu der mir freundlichst zugestellten Korrektur der Arbeit Dr. Biebers	474

495956

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Putter, E., Zur Technik der Herzpunktion beim Meerschweinchen. Mit 1 Abbildung im Text	475
Putter, E., siehe Friedberger, E.	
Putter, Erich, Untersuchungen über Bakterienkataphorese. Mit 1 Abbildung im Text	538
Richter, Marie, Zur Kenntnis der Rieckenbergschen Reaktion. (Negative Versuche zur Thromboselehre.)	186
Russ, Viktor K., und Kirschner, Leopold, Experimentelle Studien über die Funktion der Milz bei der Agglutininproduktion. Mit 8 Kurven im Text	113
Sakamoto, Tsuneo, Beiträge zur Kenntnis von Organextraktgiften und über die entgiftende Fähigkeit des Blutserums für dieselben	1
Sato, Kunio, Experimentelle Beiträge zur Vakzineimmunität	481
Schnabel, Alfred, Zum Mechanismus der antihämolytischen Wirkung der Chinaalkaloide. Mit 1 Abbildung im Text	153
Schwab, Eberhard, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Reaktivität des Syphilitikerserums. (Zugleich ein Beitrag zur Frage der technischen Ausgestaltung der Wassermannschen Reaktion.)	87
Selter, H., Ueber das Wesen der Tuberkulinreaktion	325
Stern, Margarete, Ueber die Sachs-Georgi-Reaktion und die „D.M.“ von E. Meinicke	167
Tannenberg, Joseph, Beiträge zur Theorie und Praxis der Sachs-Georgi- und Wassermann-Reaktion	381
Trommsdorff, Richard, Zur Frage der Steigerung des Agglutinititers durch große Blutentziehungen	379
Tsukahara, I., Verlauf der Agglutininbildung bei Infektion normaler und immunisierter Tiere. Mit 22 Abbildungen im Text	410

Heft 1 (S. 1—112) ausgegeben am 20. Juni 1921.

„ 2 (S. 113—228) „ „ 1. Juli 1921.

„ 3/4 (S. 229—378) „ „ 18. August 1921.

„ 5 (S. 379—480) „ „ 27. September 1921.

„ 6 (S. 481—560) „ „ 20. Oktober 1921.

21796
51 gel

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. 32. No. 1.

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Klinik von Professor Dr. T. Irisawa,
Universität zu Tokio.]

Beiträge zur Kenntnis von Organextraktgiften und über die entgiftende Fähigkeit des Blutserums für dieselben.

Von Dr. Tsuneo Sakamoto.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Dezember 1920.)

I. Einleitung.

Seitdem zuerst Brieger und Uhlenhuth festgestellt hatten, daß durch subkutane Injektion von homologen Säften oder Brei von verschiedenen Organen der Tod verursacht wird, beschäftigten sich viele Autoren mit dieser überaus wichtigen Frage und erzielten verschiedenartige Resultate. Als es dann später Freund gelungen war, die entgiftende Fähigkeit des Blutserums für das Organgift zu entdecken, wurde dieses Thema um so eifriger studiert. Danach wies Dold endgültig nach, daß frisches homologes Serum die aus allen Organen durch physiologische Kochsalzlösung extrahierbaren giftigen Substanzen zu entgiften vermag, doch gehen bis zum heutigen Tage die Ansichten der Autoren über die entgiftende Substanz des Blutserums noch weit auseinander. Während Cesa-Bianchi als entgiftendes Agens Komplement vermutet, verneint Dold gänzlich diese Meinung und nimmt eine unbekannte Fermentwirkung an. Von anderer Seite wird hingegen die Ansicht vertreten, daß das Serum nur wie Tierkohle, Kaolin etc. durch Adsorption diese Entgiftung bewirke. Friedberger und Ichikawa, sowie Loeb geben auch an, daß im Blutserum eine sich mit dem Koagulin (Fibrinferment) der Gewebe direkt verbindende und so das Koagulin inaktivierende Substanz (Fibrinogen) enthalten ist. Aber sie sagen nichts Näheres über diese im Blutserum enthaltene Substanz. So stehen jetzt noch keine allgemein herrschenden Ansichten über diese Substanz fest. Ich unternahm es deshalb, diese Entgiftung der Organextrakte durch Blutserum genauer zu erforschen und führte die hier folgenden Untersuchungen aus.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.

1

II. Methodik.

1. Herstellung der Organgifte.

Ich benutzte zum größten Teil Kaninchenlunge (nur ausnahmsweise Hunde- und Meerschweinchenlunge) als Extrakt lieferndes Organ. Da ich zu meinen Versuchen so kleine Tiere wie Mäuse verwendete und daher in möglichst kleiner Menge die höchste Giftdosis konzentrieren wollte, so verglich ich die Giftigkeit der verschiedenen Organe und fand laut Tabelle I die Lunge am giftigsten, Knochenmark und Leber hingegen fast ungiftig. Daher bediente ich mich ausschließlich der Lungenextrakte. Um die entgiftende Substanz des Serums genau untersuchen zu können, ist es erforderlich, das Organ möglichst blutfrei zu gewinnen. In dieser Beziehung konstatierten auch bereits Izar und Patané, daß die Giftigkeit blutleer gewaschener Lungen deutlich größer als diejenige nicht gewaschener kontralateraler Organe ist. Darum band ich, nachdem ich das Tier beinahe hatte verbluten lassen, eine Kanüle in eine Halsvene ein, durchschnitt die beiderseitige A. carotis und durchspülte den ganzen Körper mit physiologischer Kochsalzlösung. Nachdem die Lunge weißlich geworden war, wurde sie herausgenommen, mit der Schere zerschnitten und im Mörser mit doppelter Menge Ringerscher Lösung zerrieben. Filtration durch Gaze, Zentrifugation — Grundextrakt. Von diesem Grundextrakte wurden jedesmal verschiedene Verdünnungen hergestellt. Die Herstellung nahm, mit Ausnahme der Spülungszeit, meistens bis zu einer Stunde in Anspruch.

2. Vergiftungserscheinungen.

Als Versuchstiere wählte ich hauptsächlich Mäuse, deren Gewicht meist zwischen 8 g und 17 g lag. Wie schon Obata sagte, konnte auch ich konstatieren, daß das schwerere Tier nicht notwendigerweise eine größere Giftdosis als das kleinere verträgt, so daß also kein Parallelismus besteht. Somit sehe ich davon ab, die Gewichte der einzelnen Tiere anzugeben. Außer Mäusen wurden ab und zu Kaninchen und Meerschweinchen benutzt. Die Einverleibung der Extrakte erfolgte intravenös in die Schwanzvene.

Symptomatologie:

a) Mit minimaler tödlicher Menge. Das Tier bleibt zuerst einige Sekunden bis Minuten unbeweglich, macht aber einen erregten Eindruck, worauf es taumelnd nach vorn stürzt; die Atmung ist erschwert und enorm beschleunigt, während tonisch-klonische allgemeine Krämpfe mit propulsorischen Sprüngen, Schwimmbewegungen der Vorderextremitäten, Opisthotonus und Exophthalmus auftreten. Die Hinterbeine bleiben dagegen gewöhnlich von Anfang an paralytisch gestreckt. Dieser Krampfperiode folgt eine paralytische, während welcher die Reflexe, mit Ausnahme des Cornealreflexes, erloschen sind. Nun verschwindet auch der Cornealreflex und das

Tier verendet. Selten tritt eine neue Krampfphase, von einer weiteren paralytischen gefolgt, auf. Die Tiere sterben in 1—3—5 Minuten.

Dies ist aber nur die allgemeinste Reihenfolge der Erscheinungen, doch gibt es natürlich alle möglichen Ausnahmefälle. Während das eine Tier einige Sekunden nach der Injektion sich in unruhigem Zustand auf die Hinterbeine stellte, nach vorn stürzte und in Krämpfe verfiel, dauerte bei dem anderen die Dyspnoë einige Minuten, wobei es Harn und Kot von sich gab und nach aufgetretener Roll- und Reitbahnbewegung schließlich zugrunde ging.

b) Der Injektion der mehrfach tödlichen Dosis erliegen die Tiere mitunter sofort, indem sie einfach tot hinfallen, jedoch ist dies selten; öfter wird das Tier von Krämpfen befallen, stürzt nach vorn, fällt dann plötzlich auf die Seite; Krämpfe, Dyspnoë, Paralyse mit Exophthalmus und endlich Tod vollenden dann das Bild.

c) Bei Einführung untertödlicher Giftmengen weichen die meisten Symptome nur an Intensität von den durch die tödliche Minimaldosis hervorgerufenen ab; es können Exophthalmus, Krämpfe, Abgang des Harns fehlen. Das Tier erholt sich allmählich vom paralytischen Stadium, und zwar in der entgegengesetzten Reihenfolge des Auftretens der beschriebenen Symptome. Allgemein gesagt, treten bei großen Giftmengen alle Erscheinungen schneller und typischer als bei kleineren auf und der Tod tritt auch dementsprechend früher ein. Ich folgte dem Verlauf bis zu 24 Stunden, aber legte das Hauptgewicht auf die akuten Erscheinungen, so daß ich „letale Dosis des Extraktes“, „Entgiftungsdosis des Serums“ etc. meistens nach dem Verlaufe einiger Stunden bestimmte.

Tabelle I.

Organ	Verdünnung	Dosis	Resultat
Kaninchen No. 1.			
Lunge	$\frac{1}{4}$	0,25	† 1 Min. ¹⁾
"	"	0,15	† 1 "
"	$\frac{1}{8}$	0,1	schwerst erkrankt, aber erholt
Niere	$\frac{1}{4}$	0,25	† 2 Min.
"	"	0,15	schwerst erkrankt, aber erholt
Gehirn	"	0,25	† 1 Min.
"	"	0,15	schwerst, aber erholt
Herz	"	0,25	† 5 Min.
"	"	0,15	o. B.
Muskel	"	0,5	† 1 Min.
"	"	0,25	schwer erkrankt, bald erholt
Milz	"	0,5	† 2 Std.
"	"	0,25	schwerst, aber erholt
Leber	"	0,5	† 1 Min.
"	"	0,25	etwas erkrankt, bald erholt
Knochenmark	"	0,25	o. B.
"	"	0,5	o. B.
"	"	0,5	o. B.

1) Nach einer Minute gestorben.

1*

Organ	Verdünnung	Dosis	Resultat
Kaninchen No. 2.			
Lunge	$\frac{1}{4}$	0,25	† 2 Min.
"	"	0,15	schwer, aber bald erholt
Niere	"	0,4	† 2 Min.
"	"	0,25	o. B.
Gehirn	"	0,25	† 1 Min.
"	"	0,15	schwer, aber erholt
Herz	"	0,25	† 1 Min.
"	"	0,15	schwerst, aber erholt
Muskel	"	0,5	† 1 Min.
"	"	0,25	o. B.
Milz	"	0,25	† 3 Min.
"	"	0,15	† 5 "
Leber	"	0,5	† 3 "
"	"	0,25	o. B.
Knochenmark	"	0,5	o. B.
"	"	0,25	o. B.
"	$\frac{1}{2}$	0,5	o. B.

III. Giftigkeit der Lungenextrakte.

Tabelle II.

Verdünnung	Dosis	Resultat	Verdünnung	Dosis	Resultat
Kaninchen No. 1.			Kaninchen No. 2.		
$\frac{1}{2}$	0,25	† 1 Min.	$\frac{1}{2}$	0,25	† 1 Min.
$\frac{1}{4}$	0,4	† 1 "	$\frac{1}{4}$	0,35	† 1 "
"	0,3	† 70 Sek.	"	0,25	† 90 Sek.
"	0,25	† 70 "	"	0,1	schwer erkrankt, erholt
"	0,1	etwas erkrankt, bald erholt	minimale letale Dosis = 0,25 ccm d. $\frac{1}{4}$ Verdünnung.		
minimale letale Dosis = 0,25 ccm d. $\frac{1}{4}$ Verdünnung.			Kaninchen No. 4.		
Kaninchen No. 3.			$\frac{1}{2}$	0,25	† 1 Min.
Grundextr.	0,3	† 2 Min.	$\frac{1}{4}$	0,4	† 1 "
"	0,3	† 1 "	"	0,3	† 2 "
"	0,25	† 1 Std.	"	0,25	† 1 Std.
$\frac{1}{2}$	0,5	† 4 "	"	0,1	etwas erkrankt, erholt
"	0,35	† 1 Tag	minimale letale Dosis = 0,25 ccm d. $\frac{1}{4}$ Verdünnung.		
$\frac{1}{4}$	0,4	† 1 "			
"	0,35	† 1 "			
"	0,3	† 1 "			
minimale letale Dosis = 0,5 ccm d. $\frac{1}{2}$ Verdünnung.					

Verdünnung	Dosis	Resultat
Kaninchen No. 5.		
$\frac{1}{2}$	0,25	† 2 Min.
$\frac{1}{4}$	0,25	† 12 Std.
"	0,25	† 5 "
"	0,1	o. B.
minimale letale Dosis = 0,25 ccm d. $\frac{1}{4}$ Verd.		

Aus den Tabellen ergibt sich, daß die Giftigkeit des Kaninchenlungenextraktes im großen und ganzen konstant — 0,25 ccm der $\frac{1}{4}$ Verdünnung ist, aber genauer betrachtet können bei einzelnen Fällen individuelle Verschiedenheiten wahrgenommen werden. Daher habe ich der Sicherheit halber bei allen Versuchen immer als Kontrolle die Giftigkeit des betreffenden Extraktes geprüft.

IV. Thermolabilität der Organextrakte.

Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen fanden, daß die Organgifte bei Erwärmung auf 60° C ungiftig werden. Dold kam auch zu demselben Schlusse. Demgegenüber konnten Izar und Faguoli nachweisen, daß die Giftigkeit eine 10 Minuten lange Erhitzung sogar bis auf 100° C verträgt, und auch Aronson konstatierte die Koktostabilität des Meer-schweinchenlungenextraktes. Auch Ichikawa erzielte ähnliche Resultate, und Mita behauptete gleichfalls komplette Kochbeständigkeit der Organextrakte.

Im Zusammenhange mit der Untersuchung der Entgiftung habe ich mich auch mit der Nachprüfung dieser Frage befaßt und folgende Resultate erhalten (siehe Tabelle III auf p. 6).

Natürlich kommt es vor, daß die Extrakte beim Erwärmen mehr oder weniger Niederschläge bilden. Daher wurde vor der Injektion durch gründliche Schüttelung diesen Umständen genügend Rechnung getragen. Wie aus den Untersuchungen von Foà und Pellacani, Dold und Ogata hervorgeht, haben korpuskuläre Elemente keinen ursächlichen Zusammenhang mit den Organgiften. Aus den obigen Tabellen ergibt sich, daß Erhitzung auf 100° C erst nach 2 Stunden zur völligen Entgiftung ausreicht, während Erwärmung auf 38° C 10 Stunden in Anspruch nimmt. Also nach meinen Untersuchungen kann die Giftigkeit der Organextrakte zwar durch Erwärmung vernichtet werden, aber ihre Vernichtung ist bei weitem schwieriger als nach bisherigen Angaben. Um diesen Einfluß der Temperatur möglichst zu vermeiden, bewahrte ich Extrakte und Sera im Eisschrank direkt auf dem Eise auf, wo die Temperatur nie 5° C überschritt.

Tabelle III.

Temperatur	Zeit	Verdünnung	Dosis	Resultat
30° C (Zimmertemp.)	1 Std.	$\frac{1}{4}$	0,25	† 3 Min. } Kontrolle
		"	"	† 2 " }
		$\frac{1}{4}$	0,25	† 2 Min.
	3 "	"	"	† 90 Sek.
	5 "	"	"	† 2 Std.
	8 "	"	"	† 3 Min.
	10 "	"	"	o. B.
38° C	10 "	"	"	o. B.
	1 Std.	$\frac{1}{4}$	0,25	† 1 Min.
	3 "	"	"	† 1 "
	5 "	"	"	† 3 Std.
	8 "	"	"	† 1,5 "
	10 "	"	"	o. B.
56° C	10 "	"	"	o. B.
	30 Min.	$\frac{1}{4}$	0,25	† 2 Min.
	2 Std.	"	"	o. B.
	3 "	"	"	o. B.
	3 "	"	"	o. B.
	4 "	"	"	o. B.
100° C	4 "	"	0,35	o. B.
	10 Min.	$\frac{1}{4}$	0,25	† 1 Min.
	10 "	"	"	† 1 "
	30 "	"	"	† 2 Std.
	30 "	"	"	† 6 "
	30 "	"	"	† 1 Min.
	30 "	"	"	† 3 "
	1 Std.	"	"	† 8 "
	1,5 "	"	"	o. B.
	1,5 "	"	"	o. B.
100° C	1 Std.	$\frac{1}{4}$	0,25	† 3 Min.
	1,5 "	"	"	† 5 Std.
	2 "	"	"	o. B.
	2 "	"	"	o. B.
	2 "	"	"	o. B.

V. Haltbarkeit der Organextrakte.

Die Organextrakte sind bekanntlich, wie schon Kraus und Volk festgestellt haben, nicht beständig; sie sollen sich bald tagelang halten, bald aber sich nach kurzer Zeit abschwächen. Ich prüfte auch die Haltbarkeit des Giftes, welches zum Teil im Eisschrank aufbewahrt und zum Teil mit Toluol bei Zimmertemperatur (30° C) stehen geblieben war (siehe Tabelle IV).

Tabelle IV.

Zeit	Verdünnung	Dosis	Resultat
No. 1.			
sofort	$\frac{1}{4}$	0,25	† 3 Min.
1 Tag	"	"	† 3 "
3 Tage	"	"	† 3 "
4 "	"	"	† 8 Std.
5 "	"	"	† 10 "
7 "	"	"	† 14 "
9 "	"	"	† 10 Min.
11 "	"	"	† 5 "
14 "	"	"	† 4 "
17 "	"	0,3	† 15 "
21 "	"	0,25	† 1 "
No. 2.			
sofort	$\frac{1}{4}$	0,25	† 3 Min.
1 Tag	"	"	† 3 "
2 Tage	"	"	† 2 "
3 "	"	"	† 3 Std.
4 "	"	"	† 10 "
5 "	"	"	† 2 "
6 "	"	"	† 12 "
No. 3.			
sofort	$\frac{1}{4}$	0,25	† 10 Min.
1 Tag	"	"	† 3 Std.
2 Tage	"	"	† 6 "
3 "	"	"	† 8 "
6 "	"	"	† 12 "
7 "	"	"	† 9 "
No. 4.			
sofort	$\frac{1}{4}$	0,25	† 3 Min.
1 Tag	"	"	† 2 "
2 Tage	"	"	† 3 "
3 "	"	"	† 3 "
13 "	"	"	† 3 "
13 "	"	"	schwer erkrankt, erholt
No. 5.			
sofort	$\frac{1}{4}$	0,25	† 1 Std.
1 Tag	"	"	† 3 "
2 Tage	"	"	schwerst, aber erholt
4 "	"	"	† 16 Std.
11 "	"	"	† 3 Minuten (Fäulnis)
No. 6.			
Mit Toluol (als Ueberschicht) bei Zimmertemperatur (30° C) aufbewahrt			
sofort	$\frac{1}{4}$	0,25	† 3 Min.
1 Tag	"	"	† 3 "
2 Tage	"	"	† 10 Std.
3 "	"	"	† 24 "

Aus den vorstehenden Tabellen ist ersichtlich, daß Lungenextrakte ein paar Tage ihre Giftigkeit im anfänglichen Grade

beibehalten können und Toluol auch zur Erhaltung der Giftigkeit recht viel beitragen kann. Mit der Zeit bilden sich durch Umsetzung Niederschläge am Boden. Dabei wurde nur der Abguß zur Injektion benutzt. Hierbei bemerkt man deutlich, daß die Abnahme der Giftigkeit im großen und ganzen mit der Niederschlagbildung Hand in Hand geht und ihren Höhepunkt zwischen 5—10 Tagen erreicht. Endlich tritt manchmal Fäulnis ein und die Giftigkeit nimmt wieder plötzlich zu; deshalb wurden zu den Versuchen ältere Extrakte nicht benutzt.

VI. Abnahme der Giftigkeit durch Adsorption.

Da die giftige Substanz der Organextrakte eine Art Eiweißkörper ist, so ist es leicht begreiflich, daß sie auch adsorbiert wird und die Giftigkeit dementsprechend verloren geht.

Diesbezüglich wurden schon verschiedene Untersuchungen von Cesa-Bianchi, Dold und Izar ausgeführt. Uhlenhuth und Händel, sowie Dold haben nachgewiesen, daß die Organextraktgifte durch Filtration durch ein Porzellanfilter ihrer Giftigkeit beraubt werden. Ebenso werden nach Dold und Izar die Extrakte durch Behandlung mit Kaolin ganz ungiftig.

Ich habe diese Tatsache nachgeprüft und kam zu den folgenden Resultaten. Das Extrakt wurde mit halbem Gewicht Kaolin (Merck) resp. Tierkohle (Merck) 20 Minuten lang geschüttelt und danach abzentrifugiert.

Tabelle V.

Verdünnung	Adsorbens	Dosis ccm	Resultat
No. 1.			
$\frac{1}{4}$	.	0,5	† 1 Min.
"	.	0,3	† 3 "
"	.	0,25	† 90 Sek.
$\frac{1}{4}$ 1 ccm	Kaolin 0,5 g	0,6	† 40 "
dgl.	dgl.	0,3	† 3 Min.
"	"	0,25	† 2 "
$\frac{1}{4}$ 1 ccm	Tierkohle 0,5 g	0,35	† 12 Std.
dgl.	dgl.	0,3	† 5 Min.
"	"	0,25	† 12 Std.
$\frac{1}{4}$	durch Berkefeld- filter filtriert	0,6	etwas erkrankt
"	dgl.	0,5	o. B.
"	"	0,35	o. B.

Verdünnung	Adsorbens	Dosis ccm	Resultat
No. 2.			
$\frac{1}{4}$	.	0,3	† 4 Min. } Kontrolle
"	.	0,25	† 16 " }
$\frac{1}{4}$	durch Berkefeld- filter filtriert	0,5	† 2 Std. }
"	dgl.	0,25	† 12 "
"	"	0,25	† 15 "
No. 3.			
$\frac{1}{4}$	.	0,45	† 3 Min. } Kontrolle
"	.	0,3	† 4 Std. }
"	.	0,25	† 16 " }
$\frac{1}{4}$	durch Berkefeld- filter filtriert	0,65	o. B. }
"	dgl.	0,5	o. B.

Izar hat den Beweis geliefert, daß die Entgiftung (durch Kaolin, Talk, Tierkohle, Gehirn) nur bei Einhaltung gewisser Mengenverhältnisse zustande kommt und ein Ueberschuß des einen oder anderen Bestandteiles die Entgiftung beeinträchtigt.

Ich habe die Versuche ganz nach den von Izar angegebenen Mengenverhältnissen angestellt.

Tabelle VI.

Verdünnung	Adsorbens	Zeit und Temperatur	Dosis	Resultat
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 2 Std. } Kon-
"	.	.	0,25	† 4 Min. } trolle
"	.	.	0,25	† 3 " }
$\frac{1}{4}$ 1,0 ccm	Kaolin 0,1 g	30 Min. bei 37° C, zen-	0,25	† 3 Min. }
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	beinahe Tod, eben erholt
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	dgl.
$\frac{1}{4}$ 5,0 ccm	Kaolin 0,1 g	1 Std. im Eisschrank, zentrifugiert	0,25	schwersterkrankt, eben erholt
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	dgl.
$\frac{1}{4}$ 2,0 ccm	Tierkohle 0,5 g	5 Min. bei Zimmertem-	0,25	† 3 Min.
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	† 2 "
$\frac{1}{4}$ 10,0 ccm	Tierkohle 5,0 g	10 Min. bei Zimmertem-	0,25	† 1 Min.
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	† 1 Std.
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	† 1 "

Es geht aus den vorstehenden Tabellen klar hervor, daß die Organextrakte durch Adsorption zwar ihrer Giftigkeit beraubt werden können, daß aber von einer vollständigen Entgiftung nicht die Rede sein kann. Auch konnte ich nicht

die zur völligen Entgiftung nötigen bestimmten Mengenverhältnisse, wie Izar angegeben, ermitteln.

VII. Entgiftung der Organextrakte durch Blutsera.

Tabelle VII.

Extrakt Verdünnung	Serum	Zeit u. Temperatur	Dosis ccm	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 30 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 5 „ } trolle
.	$\frac{1}{2}$ eigenes Serum	1 Std. bei 37° C	0,5	o. B. } Kontrolle
.	dgl.	dgl.	0,45	o. B. }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes Serum 1 ccm	„	0,5	etwas erkrankt, bald erholt
dgl.	dgl.	„	0,45	o. B.
„	„	„	0,4	o. B.
„	eigenes, aber bei 56° C inaktiviertes Serum	„	0,5	† 3 Min.
dgl.	1 ccm dgl.	dgl.	0,25	† 5 Min.
No. 2.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,45	† 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	0,35	† 1 „ } trolle
.	$\frac{1}{2}$ eigenes Serum	.	0,5	o. B. }
.	dgl.	.	0,3	o. B. }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes Serum 1 ccm	1 Std. bei 37° C	0,45	o. B.
dgl.	dgl.	dgl.	0,4	o. B.
„	„	„	0,35	o. B.
„	eigenes, durch Wärme inaktiviertes Serum 1 ccm	„	0,5	† 1 Min.
„	dgl.	„	0,25	† 2 Min.
No. 3.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 1 „ } trolle
.	$\frac{1}{2}$ eigenes Serum	.	0,5	o. B. }
.	dgl.	.	0,25	o. B. }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes Serum 1 ccm	1 Std. bei 37° C	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	„	0,4	o. B.
„	eigenes, durch Wärme inaktiviertes Serum 1 ccm	„	0,5	† 1 Min.
„	dgl.	„	0,25	† 1 Min.
No. 4.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 3 Min. Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes Serum 1 ccm	1 Std. bei 37° C	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	dgl.	0,25	o. B.
„	eigenes, durch Wärme inaktiviertes Serum 1 ccm	„	0,25	† 3 Min.
„	dgl.	„	0,25	† 4 Min.

Extrakt Verdünnung	Serum	Zeit u. Temperatur	Dosis cem	Resultat
No. 5.				
$\frac{1}{4}$ Hund- lungen-E. dgl.	.	.	0,3	+ 3 Min.
.	.	.	0,25	+ 6 Std.
.	$\frac{1}{2}$ eigenes Serum dgl.	.	0,5	o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 cem dgl.	eigenes Serum 1 cem dgl.	1 Std. bei 37° C dgl.	0,25	o. B.
"	eigenes, durch Wärme inaktiviertes Serum 1 cem dgl.	"	0,25	o. B.
"	"	"	0,5	+ 2 Min.
"	"	"	0,25	+ 2 Std.
No. 6.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,5	+ 1 Min.
"	.	.	0,3	+ 2 "
"	.	.	0,25	+ 1 "
.	$\frac{1}{2}$ eigenes Serum dgl.	.	0,5	o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 cem dgl.	eigenes Serum 1 cem dgl.	1 Std. bei 37° C dgl.	0,25	o. B.
"	eigenes, durch Wärme inaktiviertes Serum 1 cem dgl.	"	0,5	+ 2 Min.
"	"	"	0,25	+ 4 "
"	"	"	0,5	+ 2 "
"	"	"	0,25	+ 2 Min.
No. 7.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	+ 3 Min.
.	$\frac{1}{2}$ eigenes Serum dgl.	.	0,5	o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 cem dgl.	eigenes Serum 1 cem dgl.	1 Std. bei 37° C dgl.	0,5	+ 4 Min.
"	eigenes, durch Wärme inaktiviertes Serum 1 cem dgl.	"	0,25	+ 5 "
"	"	"	0,3	+ 2 "
"	"	"	0,25	+ 5 Min.

Wie Dold, Izar, Loeb, Ichikawa, Yoshimura und Obata schon angegeben haben, verliert das Lungenextrakt in manchen Fällen, wenn es mit eigenem Blutserum zu gleichen Teilen gemischt wird, vollständig seine Giftigkeit. Aber wenn das Serum 30 Minuten lang bei 56° C inaktiviert wird, verliert es sofort seine entgiftende Fähigkeit. Diese Tatsache steht mit den Resultaten früherer Forscher wie Dold etc., in vollem Einklang. Mitunter, aber selten, kann das Extrakt durch eigenes Serum nicht völlig neutralisiert werden. Mit andern Worten ist, wie schon Izar angegeben hat, die Entgiftung durch Sera etwas unbeständig. Nebenbei bemerkt, haben nach Korschun und Morgenroth, Savtschenko und Berdonikoff, Dömeny, Donath und

Landsteiner, sowie Lüdke normale Seren eine stark hemmende Wirkung auf die Hämolyse durch Organextrakte, die aber beim Erhitzen auf 100° C erhalten bleibt. Darum schlossen sie, daß es sich hier nicht um normale Antikörper handelt. Aber in meinem Falle war die entgiftende Wirkung ganz thermolabil, welche Tatsache eher für ihre Antikörpernatur spricht.

VIII. Mengenverhältnisse der Organextrakte und Blutsera bei der Entgiftung.

Meine weiteren Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage, welche Serummenge nötig ist, um das Lungenextrakt zu entgiften. Natürlich wurde das Extrakt-Serumgemisch immer durch Ringersche Lösung auf das gleiche Volumen gebracht.

Tabelle VIII.

Extrakt Verdünnung	Serum cem	Zeit u. Temperatur	Dosis cem	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,35	† 1 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1" cem	0,4	1 Std. bei 37° C	0,25	† 1 " }
dgl.	0,4	dgl.	0,25	† 2 Std.
"	0,6	"	0,25	† 10 Min.
"	0,6	"	0,25	† 2 Std.
"	0,8	"	0,25	† 15 Min.
"	0,8	"	0,25	† 10 "
"	1,0	"	0,25	† 2 Std.
"	1,0	"	0,4	o. B.
"		"	0,25	o. B.
No. 2.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	beinahe Tod, all- } Kontrolle
"	.	.	0,25	mählich erholt }
$\frac{1}{2}$ 1" cem	0,3	1 Std. bei 37° C	0,25	† 20 Std.
dgl.	0,3	dgl.	0,5	† 3 Std.
"	0,5	"	0,25	† 12 "
"	0,5	"	0,5	† 3 "
"	0,5	"	0,3	† 24 "
"	1,0	"	0,6	o. B.
"	1,0	"	0,8	o. B.
No. 3.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,3	† 2 Min. } Kontrolle
"	.	.	0,25	† 2 " }
$\frac{1}{2}$ 1" cem	0,2	1 Std. bei 37° C	0,35	† 2 Std.
dgl.	0,2	dgl.	0,25	† 1 "
"	0,3	"	0,4	† 1 Min.
"	0,3	"	0,25	† 3 "
"	0,4	"	0,5	schwerst erkrankt, erholt

Extrakt Verdünnung	Serum ccm	Zeit u. Temperatur	Dosis ccm	Resultat
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	0,4 0,5	1 Std. bei 37° C dgl.	0,25 0,4	schwer erkrankt, erholt dgl.
"	0,5	"	0,25	"
"	0,7	"	0,5	o. B.
"	0,7	"	0,45	o. B.
"	0,8	"	0,5	o. B.
"	0,8	"	0,45	o. B.
"	1,0	"	0,5	o. B.
"	1,0	"	0,4	o. B.
No. 4.				
$\frac{1}{4}$ 1 ccm dgl.	1,0 1,0	1 Std. bei 37° C dgl.	0,25 0,5	† 30 Min. Kontrolle o. B.
"	0,5	"	0,25	o. B.
"	0,5	"	0,5	o. B.
No. 5.				
$\frac{1}{4}$ "	.	.	0,4	† 1 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	0,3 0,3	1 Std. bei 37° C "	0,25 0,5	† 3 Std. } † 2 Min. }
"	0,5	"	0,25	† 4 "
"	0,5	"	0,65	etw. erkrankt, bald erholt
"	1,0	"	0,25	o. B.
"	1,0	"	0,7	o. B.
"	1,0	"	0,5	o. B.
No. 6.				
$\frac{1}{4}$ "	.	.	0,25	† 4 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	1,0 1,0	1 Std. bei 37° C dgl.	0,25 0,5	† 3 " } † 1 " }
Grund-E 0,5 ccm dgl.	1,5 1,5	" "	0,25 0,5	† 4 " † 1 Std.
"	1,5	"	0,25	† 2 Std.
No. 7.				
$\frac{1}{4}$ "	.	.	0,25	† 5 Min. Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	1,0 1,5	1 Std. bei 37° C dgl.	0,25 0,25	† 24 Std. o. B.
"	1,5	"	0,25	o. B.

Aus vorstehenden Tabellen ist es klar, daß die entgiftende Fähigkeit des Serums auch für das eigene Lungenextrakt individuell recht viel variiert, in den meisten Fällen zu gleichen Teilen gemischt, aber mitunter im Mengenverhältnisse von 1:1,5 zugesetzt, zutage tritt, was schon von Dold teilweise nachgewiesen worden ist.

IX. Zeitlicher Verlauf der Entgiftung.

Auch braucht es, wie von Dold bemerkt, zur Entgiftung des Lungenextraktes eine gewisse Zeit, weil, wie die folgende

Tabelle zeigt, das Extrakt-Serumgemisch sofort nach der Mischung noch recht giftig ist. Nach meinen Untersuchungen wird das Extrakt durch das Serum nach einer Stunde bei 37° C vollständig entgiftet, wenn das Serum tatsächlich die Fähigkeit besitzt.

Tabelle IX.

Extrakt Verdünnung	Serum	Zeit und Temperatur	Dosis	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{2}$ $\frac{1}{4}$ ccm	1,0 ccm	gleich nach der Mischung	0,3	† 2 Min. Kontrolle
dgl.	dgl.	1 Std. bei 37° C	0,3	† 2 „
			0,5	o. B.
No. 2.				
$\frac{1}{2}$ $\frac{1}{4}$ ccm	1,0 ccm	sofort nach der Mischung	0,35	† 6 Min. Kontrolle
dgl.	dgl.	1 Std. bei 37° C	0,35	† 5 „
			0,5	o. B.
No. 3.				
$\frac{1}{2}$ $\frac{1}{4}$ ccm	1,0 ccm	gleich nach der Mischung	0,25	† 1 Min. Kontrolle
dgl.	dgl.	1 Std. bei 37° C	0,25	† 4 „
			0,5	o. B.

X. Einfluß der Temperatur auf die Entgiftung des Extraktes.

Tabelle X.

Extrakt Verdünnung	Serum	Zeit und Temperatur	Dosis	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,55	† 2 Std. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ „ ccm	1 ccm	1 Std. bei 37° C	0,5	† 4 „ }
dgl.	dgl.	dgl.	0,55	o. B.
„	„	1 Std. bei 0° C	0,5	o. B.
„	„	dgl.	0,55	† 2 Std.
			0,5	† 4 „
No. 2.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 3 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ „ ccm	1 ccm	1 Std. bei 37° C	0,25	† 2 „ }
dgl.	dgl.	dgl.	0,5	o. B.
„	„	1 Std. bei 0° C	0,25	o. B.
„	„	dgl.	0,5	† 1 Min.
			0,25	† 30 „

Aus diesen Versuchen läßt sich folgendes mit Bestimmtheit behaupten: Wie Wilde bereits bei dem Verschwinden des Komplementes durch Milzbrand-, Cholera- und rote Blut-

körperchen, Organzellen etc. entdeckt hat, beruht die Entgiftung des Organextraktes durch Sera nicht nur auf physikalischer Adsorption, sondern auch auf biologischem oder chemischem Prozeß. Sie hängt somit nicht allein von der Menge der Adsorbentien und der Kontaktzeit ab, sondern auch von der Temperatur, bei welcher man die Mischungen stehen läßt, so daß bei sorgfältiger Einhaltung einer Temperatur von 0° C keine oder nur ganz unzureichende Adsorption eintritt, während sie bei Bruttemperatur (bei 37° C) eine vollständige ist.

XI. Vergleich der entgiftenden Fähigkeit der eigenen und anderen Sera gegen Lungenextrakte.

Weiter nahm ich die Untersuchung vor, wie sich eigene und andere Sera in ihrer entgiftenden Wirkung gegenüber wässrigen Organextrakten verhalten.

Tabelle XI.

Extrakt Verdünnung	Serum	bei 37° C	Dosis ccm	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,3	+ 3 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$	.	.	0,25	+ 4 " }
1 ccm	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	"	0,25	o. B.
"	eigenes 0,5 ccm	"	0,35	+ 30 Min.
"	dgl.	"	0,25	+ 5 Std.
"	anderes (a) 1 ccm	"	0,3	+ 5 Min.
"	dgl.	"	0,25	+ 1 Std.
"	anderes (b) 1 ccm	"	0,35	+ 3 "
"	dgl.	"	0,25	+ 6 "
No. 2.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,3	+ 2 Min. Kontrolle
$\frac{1}{2}$	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,5	+ 1 Std.
dgl.	dgl.	"	0,25	+ 3 "
"	"	"	0,15	o. B.
"	anderes (a) 1 ccm	"	0,3	+ 3 Min.
"	dgl.	"	0,25	+ 1 "
"	anderes (b) 1 ccm	"	0,3	+ 2 "
"	dgl.	"	0,25	+ 2 "
No. 3.				
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	+ 3 Std. Kontrolle
$\frac{1}{2}$	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,5	+ 5 "
dgl.	dgl.	"	0,25	+ 24 "
"	anderes 1 ccm	"	0,5	+ 1 "
"	dgl.	"	0,25	+ 5 "

Extrakt Verdünnung	Serum	bei 37 ° C	Dosis ccm	Resultat
No. 4.				
$\frac{1}{4}$ 1 ccm dgl.	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,25	† 1 Std. Kontrolle
"	anderes (a) 1 ccm	"	0,5	o. B.
"	" (b) 1 "	"	0,5	o. B.
"	" (c) 1 "	"	0,5	o. B.
"	" (d) 1 "	"	0,5	o. B.
No. 5.				
$\frac{1}{4}$ 1 ccm dgl.	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,25	† 12 Std. Kontrolle
"	anderes 1 "	"	0,25	† 12 "
"	"	"	0,25	† 14 "

Die obigen Tabellen haben mir tatsächlich den Beweis geliefert, daß das Kaninchenlungenextrakt unter den Kaninchen-seren durch eigenes am besten entgiftet wird. Aber selten gibt es auch solche Fälle, in denen eigenes und fremdes Serum gleich wirksam sind oder auch beide Sera unwirksam.

XII. Vergleich der entgiftenden Fähigkeit durch arteigene (homologe) und artfremde (heterologe) Sera gegen Lungen-extrakte.

Tabelle XII.

Extrakt Verdünnung	Serum	bei 37 ° C	Dosis ccm	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{4}$ Kan.-L.-E. dgl.	.	.	0,35	† 2 Min.
"	.	.	0,25	† 5 "
"	$\frac{1}{2}$ 1) Hund	.	0,5	o. B. "
"	$\frac{1}{2}$ Meerschw.	.	0,5	o. B.
"	$\frac{1}{2}$ Ziege	.	0,5	o. B.
"	$\frac{1}{2}$ Hammel	.	0,5	o. B.
"	$\frac{1}{2}$ Rind	.	0,5	o. B.
"	$\frac{1}{2}$ Schwein	.	0,5	o. B.
$\frac{1}{2}$ Kan.-L.-E. 1 ccm dgl.	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,5	† 1 Std.
"	dgl.	"	0,25	† 5 "
"	Hund 1 ccm	"	0,3	† 2 Min.
"	dgl.	"	0,2	† 5 "
"	Meerschw. 1 ccm	"	0,3	† 3 "
"	dgl.	"	0,2	† 15 "
"	Ziege 1 ccm	"	0,3	† 2 "
"	dgl.	"	0,2	† 1 Std.
"	Hammel 1 ccm	"	0,3	† 3 Min.
"	dgl.	"	0,2	† 1 Std.
"	Rind 1 ccm	"	0,3	† 5 Min.
"	dgl.	"	0,25	† 2 Std.
"	Schwein 1 ccm	"	0,3	† 4 Min.
"	dgl.	"	0,2	† 6 "

Kontrolle

1) Doppelt verdünnt.

Extrakt Verdünnung	Serum	bei 37° C	Dosis ccm	Resultat
No. 2.				
$\frac{1}{4}$ Kan.-L.-E. dgl.	.	.	0,3	+ 1 Min.
.	.	.	0,25	+ 3 "
.	$\frac{1}{2}$ Hund	.	0,5	o. B.
.	$\frac{1}{2}$ Meerschw.	.	0,5	o. B.
.	$\frac{1}{2}$ Ziege	.	0,5	o. B.
.	$\frac{1}{2}$ Hammel	.	0,5	o. B.
.	$\frac{1}{2}$ Rind	.	0,5	o. B.
.	$\frac{1}{2}$ Schwein	.	0,5	o. B.
$\frac{1}{2}$ Kan.-L.-E. 1 ccm dgl.	eigenes 1 ccm	1 Std.	0,5	+ 2 Std.
"	dgl.	"	0,25	o. B.
"	Hund 1 ccm	"	0,3	+ 1 Min.
"	dgl.	"	0,3	+ 3 "
"	Meerschw. 1 ccm	"	0,4	+ 2 Std.
"	dgl.	"	0,3	+ 30 Min.
"	Ziege 1 ccm	"	0,3	+ 2 Std.
"	dgl.	"	0,3	+ 2 "
"	Hammel 1 ccm	"	0,3	+ 3 Min.
"	dgl.	"	0,3	+ 2 "
"	Rind 1 ccm	"	0,3	+ 4 "
"	dgl.	"	0,3	+ 5 "
"	Schwein 1 ccm	"	0,3	+ 3 "

Kontrolle

Aus den Tabellen geht, wie Dold und Loeb schon bemerkt haben, die Tatsache klar hervor, daß die entgiftende Kraft der artfremden Blutsera weit hinter der des arteigenen Serums steht. Nur äußerst selten scheint die vollständige Entgiftung durch artfremdes Serum bewirkt werden zu können. Diese Tatsache hat ebenfalls in anderen Versuchen Analogie, da wir wissen, daß eine spezifische Adaptation der Gewebskoaguline an das arteigene (resp. klasseneigene) Blut besteht. Beim Vergleich mit Tabelle V ersieht man, daß, wenn überhaupt Abschwächung durch artfremde Sera vorkommt, sie doch von so leichtem Grade ist, daß man sie wohl ruhig der Adsorption durch Eiweißkörper zuschreiben kann. Andererseits haben Landsteiner und Stankovic schon Serumeiweiß als entweder schwach oder gar nicht adsorbierend gefunden. Daher halte ich es für gewagt, die Entgiftung des Organextraktes durch homologes Blutserum nur auf die Adsorption, wie manche bisherigen Autoren (Dold, K. Ichikawa) es getan haben, zurückzuführen.

XIII. Adsorption durch Eiweiß als entgiftende Funktion.

Um zu sehen, bis zu welchem Grade die Adsorption durch Eiweißkörper bei der Entgiftung des Extraktes beteiligt ist, habe ich folgende Untersuchung ausgeführt. Anstatt des Blutserums habe ich Eiereiweißlösung als Adsorbens für die Organextrakte benutzt. Das Eiereiweiß wurde zuerst durch Gaze koliert und dann wurden mit Ringerscher Lösung verschiedene Verdünnungen hergestellt.

Tabelle XIII.

Extrakt Verdünnung	Eiereiweißlösung	bei 37° C	Dosis ccm	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{4}$ Kaninchen-L.-E. dgl.	.	.	0,5	† 2 Min.
.	.	.	0,3	† 5 "
.	$\frac{1}{2}$ Verdünnung	.	0,3	† 1 "
.	$\frac{1}{4}$ "	.	0,25	† 10 "
.	" "	.	0,5	o. B.
.	" "	.	0,5	o. B.
.	" "	.	0,3	o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	$\frac{1}{4}$ 1 ccm dgl.	1 Std.	0,3	† 3 Min.
"	"	"	0,3	† 1 "
"	"	"	0,1	† 1 "

Kontrolle

Da K. Ichikawa die Eiereiweißlösung als Adsorbens ganz wirksam gefunden hat, so prüfte ich die adsorbierende Funktion derselben ganz nach der von ihm angegebenen Methode. Die Eiereiweißlösung wurde so hergestellt, daß 5 ccm des kolierten Eiereiweißes mit 25 ccm Ringerscher Lösung gemischt und gut gerührt wurden.

Tabelle XIV.

Extrakt Verdünnung	Eiereiweißlösung	bei 37° C	Dosis ccm	Resultat
No. 2.				
$\frac{1}{4}$ Kan.-L.-E. dgl.	.	1 Std.	0,3	† 1 Min.
.	.	"	0,25	† 1 "
.	$\frac{1}{10}$ Verdünnung	"	0,5	o. B.
.	dgl.	"	0,3	o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	$\frac{1}{10}$ 1 ccm dgl.	"	0,25	† 1 Min.
"	"	"	0,25	† 1 "
"	"	"	0,1	† 1 "

Kontrolle

Wie leicht ersichtlich ist, konnte ich entgegen den Angaben von Ichikawa fast keine adsorbierende Wirkung der Eiereiweißlösung für die Organextraktgifte wahrnehmen.

Nach obigen Resultaten glaube ich vielmehr mit Dold, Loeb und Izar, daß im Blutserum irgend etwas Wirksames zur Entgiftung der Organextrakte vorhanden sein muß, wenn man solch große Inkongruenz zwischen der Entgiftung durch Adsorption und der durch das eigene Blutserum feststellt.

XIV. Verhalten des hämolytischen Komplements bei der Entgiftung.

In bezug auf die wirksame Substanz des Blutserums behauptet Dold, daß es sich hierbei nicht um Komplement, sondern vielleicht um eine unbekannte Fermentwirkung handelt. Er erbrachte den Nachweis, indem er die Komplementmenge der den Organextrakten zugesetzten Sera vor und nach der Entgiftung bestimmte. Dabei bemerkte er, daß man keine merkliche Abnahme des Komplements nach der Entgiftung, sondern eher Zunahme desselben wahrnehmen könne. Andererseits konnten jedoch v. Dungern, Wilde, Korschun und Morgenroth, sowie Hoke feststellen, daß die Körperzellen der verschiedensten Organe, wie Leber, Milz, Niere, Hoden, Lungen und Gehirn imstande sind, das Komplement aus Kaninchenserum durch Adsorption zu entfernen. Dold hat auch den Beweis geliefert, daß die Abnahme der entgiftenden Fähigkeit des Serums durch Filtration bei weitem bedeutender ist als die der Komplementmenge (hämolytisches Komplement).

Wenn man aber bedenkt, daß der Gehalt des Serums an entgiftender Substanz bedeutend geringer ist als der an hämolytischem Komplement, so ist ein vollständiger Verlust der entgiftenden Fähigkeit durch Filtration leicht zu verstehen. Jedenfalls ist es in bezug auf das Wesen der entgiftenden Substanz vor allem wichtig, zu bestimmen, ob das Komplement sich bei der Entgiftung der Organextrakte beteiligt. Zuerst habe ich, wie folgende Tabelle zeigt, Organextrakt, Serum und Extrakt-Serumgemisch hergestellt und entgiftende Fähigkeit des Serums nachgewiesen.

Tabelle XV.

Extrakt Verdünnung	Serum	bei 37° C	Dosis ccm	Resultat
No. 1.				
$\frac{1}{2}$ $\frac{1}{4}$ ccm dgl.	eigenes 1 ccm dgl.	1 Std.	0,25	† 1 Std. (Kontr.)
		„	0,65	o. B.
			0,5	o. B.
$\frac{1}{2}$ Extrakt a				
$\frac{1}{2}$ Serum b				
$\frac{1}{2}$ Extrakt + $\frac{1}{2}$ Serum aa	c			

2*

Hierauf wurde von a, b und c der Komplementgehalt an einem hämolytischen System geprüft, indem fallende Menge von a, b und c mit gleichbleibenden Mengen Antigen (Hammelblutkörperchenaufschwemmung) und hämolytischem Ambozeptor (hämolytischem Antiserum) zusammengebracht wurden.

Mischung a (in 1 ccm)	Hämolytisches Anti- serum (in 0,5 ccm)	5-proz. Hammelblut- körperchen-Aufschw.	Hämolyse
0,5	0,0005	0,5	-
0,4	"	"	-
0,3	"	"	-
0,2	"	"	-
0,1	"	"	-
0,05	"	"	-
0,5	"	"	-
0,1	"	"	-
Mischung b (in 1 ccm)			
0,5	0,0005	0,5	komplett
0,4	"	"	"
0,3	"	"	"
0,25	"	"	"
0,2	"	"	fast komplett
0,15	"	"	Spuren
0,1	"	"	-
0,075	"	"	-
0,05	"	"	-
0,5	"	"	-
0,1	"	"	-
Mischung c (in 1 ccm)			
0,5	0,0005	0,5	-
0,4	"	"	-
0,3	"	"	-
0,25	"	"	-
0,2	"	"	-
0,15	"	"	-
0,1	"	"	-
0,075	"	"	-
0,05	"	"	-
0,5	"	"	-
0,1	"	"	-

Extrakt Verdünnung	Serum	bei 37° C	Dosis ccm	Resultat
No. 2.				
1/4	.	.	0,25	schwerst, aber er- holt (Kontrolle)
1/3 1 ccm	eigenes Ser. 1 ccm	1 Std.	0,6	o. B.
1/2 1 ccm	dgl.	"	0,8	o. B.

$\frac{1}{2}$ Extrakt a
 $\frac{1}{2}$ Serum b
 $\frac{1}{2}$ Extrakt + $\frac{1}{2}$ Serum aa . . c

Mischung a (in 1 ccm)	Hämolysches Anti- serum (in 0,5 ccm)	5-proz. Hammelblut- körperchen-Aufschw.	Hämolysse
0,5	0,0005	0,5	-
0,4	"	"	-
0,3	"	"	-
0,2	"	"	-
0,1	"	"	-
0,05	"	"	-
0,5	"	"	-
0,1	"	"	-
Mischung b (in 1 ccm)			
0,5	0,0005	0,5	komplett
0,4	"	"	"
0,3	"	"	"
0,25	"	"	"
0,2	"	"	"
0,15	"	"	fast komplett
0,1	"	"	Spuren
0,075	"	"	-
0,05	"	"	-
0,5	"	"	-
0,1	"	"	-
Mischung c (in 1 ccm)			
0,5	0,0005	0,5	-
0,4	"	"	-
0,3	"	"	-
0,25	"	"	-
0,2	"	"	-
0,15	"	"	-
0,1	"	"	-
0,075	"	"	-
0,05	"	"	-
0,5	"	"	-
0,1	"	"	-

Aus diesen Resultaten läßt sich feststellen, daß das Extrakt keine Spur von hämolyschem Komplement enthält und, wie v. Dungern, Bail, Wilde etc. bei Organzellen richtig gefunden haben, daß Extrakt auch hämolysche Komplemente aufnehmen kann. Diese Tatsache spricht eher dafür, daß das Komplement bei der Entgiftung eine Rolle spielt.

XV. Extrahierbarkeit der entgiftenden Substanz.

In der Annahme, daß die entgiftende Substanz des Serums zum extrahierbaren Stoffe im Serum irgendeine Beziehung

haben könne, führte ich folgende Versuche aus. Nachdem, wie folgt, die entgiftende Fähigkeit des Serums konstatiert worden war, wurde es mit Aceton, Alkohol und Aether geschüttelt.

Extrakt	Serum	Dosis	Resultat
$\frac{1}{4}$	.	0,5	† 30 Sek.
	.	0,25	† 1 Min.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	0,5	o. B.
dgl.	1 „	0,25	o. B.

a) Mit Aceton.

Das Serum wurde mit Aceton im Mengenverhältnis 1:5 gemischt und je eine (1) und 2 Stunden (2) geschüttelt; der bei 37° C erhaltene Acetonrückstand wurde in der ursprünglichen Menge (1 ccm) Ringer-scher Lösung gelöst, mit Organextrakt gemengt, eine Stunde lang im Brut-ofen digeriert und dann den Mäusen injiziert.

Extrakt	Acetonrückstand	Dosis	Resultat
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm (2 Std. lang geschüttelt)	0,4	† 1 Min.
dgl.	dgl.	0,3	† 1 „
„	1 ccm (1 Std. lang geschüttelt)	0,5	† 1 „
„	dgl.	0,25	† 2 Std.

b) Mit 98-proz. Alkohol.

Serum mit Alkohol im Verhältnis von 1:10 und 1:20 gemengt und bei Zimmertemperatur 2 Stunden lang geschüttelt. Sonst ganz gleich wie oben.

Extrakt	Alkoholrückstand	Dosis	Resultat
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm (1:10)	0,5	† 30 Min.
dgl.	dgl.	0,25	† 1 Std.
„	1 ccm (1:20)	0,5	† 40 Min.
„	dgl.	0,25	† 1,5 Std.

c) Mit Aether.

Serum mit Aether im Verhältnis 1:5 gemischt, in 2 Portionen ge-teilt und die eine 2 und die andere 1 Stunde lang geschüttelt. Sonst ganz gleich wie oben.

Extrakt	Aetherrückstand	Dosis	Resultat
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm (2 Std. lang geschüttelt)	0,5	† 1 Min.
dgl.	dgl.	0,25	† 1 Std.
„	1 ccm (1 Std. lang geschüttelt)	0,5	† 3 Min.
„	dgl.	0,25	† 30 „

Aus obigen Resultaten kann man schließen, daß die ent-giftende Substanz mit extrahierbarem Stoffe (z. B. Lipoid) in keinem Zusammenhange steht.

XVI. Dialysierbarkeit der entgiftenden Substanz.

Eiweiß diffundiert als Kolloid nicht durch tierische Membran, dagegen sind schon die nächsten Abbaustufen, die Peptone, dialysabel. Ich habe untersucht, ob die entgiftende Substanz des Serums zu dialysablem Stoffe irgendeine Beziehung haben kann.

Als Dialysierschläuche habe ich diejenigen von Schleicher und Schüll No. 579 A, welche eigentlich für den Nachweis von Abderhalden'schen Abwehrfermenten hergestellt waren, benutzt. Ich gab in 3 Dialysierhülsen je 3 ccm des im Kontrollversuche sicher entgiftungsfähigen Serums und setzte sie nun in mit 10 ccm destilliertem Wasser beschickte Wiegegläsern. Nun goß ich eine große Menge Toluol in die Hülse und auf die Außenflüssigkeit. Nachdem die Wiegegläsern dicht geschlossen waren, kamen sie in den Eisschrank, der 5° C nie überschritt. Nach 1, 2 und 3 Tagen wurde die Außenflüssigkeit je eines der 3 Wiegegläsern mittels einer Pipette entnommen, im Faust-Heimschen Apparat bis zum anfänglichen Volumen der Innenflüssigkeit (3 ccm) bei niedriger Temperatur eingeeengt und wie gewöhnlich zur Prüfung der entgiftenden Fähigkeit benutzt.

Tabelle XVI.

Extrakt	Serum		Dosis	Resultat
	nativ	Dialysat		
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 1 Min. } Kontrolle
"	.	.	0,25	† 2 " }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,5	† 10 Std.
dgl.	"	.	0,25	etwas erkrankt, erholt
"	.	1 ccm	0,5	† 30 Sek.
"	.	(1 Tag dialys.)		
"	.	dgl.	0,25	† 50 "
"	.	1 ccm	0,5	† 1 Min.
"	.	(2 Tage dialys.)		
"	.	dgl.	0,25	† 1 "
"	.	1 ccm	0,5	† 30 Sek.
"	.	(3 Tage dialys.)		
"	.	dgl.	0,25	† 2 Min.

Hieraus kann man mit Sicherheit schließen, daß die entgiftende Fähigkeit des Serums keinen Zusammenhang mit dem dialysierbaren Stoffe desselben hat.

XVII. Kohlehydrate als entgiftende Substanz gegen Organextrakte.

Da ich, wie Goto, eine entgiftende Wirkung des Adrenalins für Organextrakte feststellen konnte (folgende Versuche), dachte ich, daß die dabei auftretende Hyperglykämie zu der

Entgiftung in irgendeiner Beziehung stehen könnte, abgesehen von der von manchen Autoren vertretenen vasokonstriktorischen Wirkung.

Tabelle XVII.

Extrakt	Adrenalin	Dosis ccm	Resultat
$\frac{1}{4}$	.	0,3	† 5 Min.
"	.	0,25	† 8 "
"	$\frac{1}{10\ 000}$ 1)	0,1	† 3 "
"	$\frac{1}{100\ 000}$	0,25	o. B.
"	"	0,1	o. B.
$\frac{1}{4}$ 1 ccm dgl.	$\frac{1}{100\ 000}$ 0,2 ccm dgl.	0,6	schwerst, aber erholt
"	"	0,5	† 15 Std.
"	"	0,3	schwerst, aber erholt

In den folgenden Versuchen wurde die Extraktinjektion jedesmal erst 3 Minuten nach der Adrenalininjektion, nachdem die Tiere die Adrenalininjektion anstandslos vertragen hatten, vorgenommen.

No.	Adrenalin	Extrakt	Dosis ccm	Resultat	Bemerkung
1	$\frac{1}{100\ 000}$	$\frac{1}{4}$	0,1	o. B.	
			0,45	† 2 Std.	nach 3 Min.
2	"	$\frac{1}{4}$	0,25	o. B.	
			0,4	† 20 Min.	nach 3 Min.

Tabelle XVIII.

Extrakt	(10 Proz.) Trauben- zucker	bei 37 ° C	Dosis cēm	Tier	Resultat	Be- mer- kung
$\frac{1}{4}$	.	.	0,3	Maus	† 3 Std.	} Kon- trolle
"	.	.	0,25	"	† 2 "	
$\frac{1}{2}$ 1 ccm dgl.	1 ccm	1 Std.	0,5	"	† 5 "	
Grundextr.	"	"	0,3	"	† 2 "	} Kon- trolle
"	"	"	3,0 (pro kg 1,2)	Kanin.	† sofort	
"	"	"	0,7 (" " 0,5)	"	† 1 Min.	
"	"	"	0,6 (" " 0,5)	"	† sofort	
G.-E. 1 ccm dgl.	2 ccm	1 Std.	3,0 (" " 0,7)	"	† 1 Min.	
"	"	"	3,0 (" " 0,5)	"	† 3 "	
"	"	"	5,4 (" " 1,0)	"	† 1 "	

Es ist somit ganz klar, daß der Traubenzucker keinen Zusammenhang mit der entgiftenden Funktion des Blutserums für Organextrakte hat. Auch habe ich die gelegentlich im

1) 10-fache Verdünnung der käuflichen Adrenalinlösung ($\frac{1}{1000}$).

Blute auftretenden Kohlehydrate auf ihre eventuelle organextraktentgiftende Fähigkeit untersucht.

Tabelle XIX.

Extrakt	Kohlehydrat	bei 37° C	Dosis ccm	Tier	Resultat
$\frac{1}{4}$	.	.	0,3	Maus	† 3 Std.
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	"	† 2 "
.	2-proz. Maltose-Lsg. (in Ringer-Lsg.)	.	0,5	"	o. B.
.	dgl.	.	0,5	"	o. B.
.	2-proz. Laktose-Lsg. (in Ringer-Lsg.)	.	0,5	"	o. B.
.	dgl.	.	0,5	"	o. B.
.	2-proz. Saccharose-Lsg. (in Ringer-Lsg.)	.	0,5	"	o. B.
.	dgl.	.	0,5	"	o. B.
.	2-proz. Stärke-Lsg. (in Ringer-Lsg.)	.	0,5	"	o. B.
.	dgl.	.	0,5	"	o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	2-proz. Maltose-Lsg. 1 ccm	1 Std.	0,5	"	† 3 Std.
dgl.	dgl.	dgl.	0,3	"	† 2 "
"	2-proz. Laktose-Lsg. 1 ccm	"	0,5	"	† 3,5 "
"	dgl.	"	0,3	"	† 2 "
"	2-proz. Saccharose-Lsg. 1 ccm	"	0,5	"	† 2 "
"	dgl.	"	0,3	"	† 1,5 "
"	2-proz. Stärke-Lsg. 1 ccm	"	0,5	"	† 3 "
"	dgl.	"	0,3	"	† 2,5 "

Kontrolle

Hieraus kann man schließen, daß die oben genannten Kohlehydrate mit der entgiftenden Fähigkeit des Serums nichts zu tun haben.

XVIII. Leukocyten als entgiftende Substanz gegen Organextrakte.

Es ist eine schon früher von Metschnikoff, Stenström, Gruber und Futaki, Bail und Petterson, Massone etc. vertretene und nachgewiesene Tatsache, daß Leukocyten nicht nur auf Bakterien, sondern auch auf ihre Toxine vernichtend einwirken. Ihre entgiftende Funktion für Organgifte hat Yoshimura (für schwangeren Uterus) untersucht und auch in diesem Falle analoge Wirkung der Leukocyten gefunden. Aber Obata (bei Placenta) und K. Ichikawa (Milchdrüse und schwangerer Uterus) kamen zu negativen Resultaten.

Daher habe ich mit Lungenextrakt ähnliche Versuche angestellt.

Gewinnung der Leukocyten.

Einem Kaninchen wurden 50 ccm Bouillon intraperitoneal injiziert. Am nächsten Tage (ca. 20 Stunden danach) wurde die Bauchhöhle geöffnet und mit 100 ccm 1-proz. Na-Citrat-haltiger physiologischer Kochsalzlösung gründlich ausgespült. Die Flüssigkeit wurde abzentrifugiert und mit 0,85-proz. NaCl-Lösung 3mal gewaschen. Die Aufschwemmung der Leukocyten stellte ich her, indem ich die Leukocyten so suspendierte, daß meine Aufschwemmung in der Dichte einer Kaolinaufschwemmung von 1 : 1000 entsprach (Kochsalzextrakt I). Auch habe ich die 5-fach konzentrierte Leukocytenaufschwemmung auf ihre entgiftende Kraft untersucht (Kochsalzextrakt II).

Der eigentliche Versuch wurde in der Weise angestellt, daß die Leukocytenaufschwemmung, mit dem Organextrakte gemischt, 1 Stunde bei 37° C gehalten und dann wieder abzentrifugiert wurde (Kochsalzextrakt). In dem Abguß muß sich dann eine etwaige Zerstörung des Giftes nachweisen lassen. Als Kontrolle ließ ich stets die gleiche Giftmenge ohne Leukocyten und die Leukocytenaufschwemmung allein auch 1 Stunde bei 37° C stehen, um sicher zu sein, daß nicht schon Leukocyten selbst giftig sind. Bei der beschriebenen Methode beabsichtigt man, die Zellen am Leben zu erhalten und zu beweisen, daß sie giftzerstörende Stoffe sezernieren.

Kling hat aber bei einem Versuche, welcher die Zerstörung der Zellen zwecks Freimachung der entgiftenden Substanz bezweckte, folgende Resultate erzielt. Während eine gewöhnliche Digestion bei 37° C während $\frac{1}{2}$ Stunde nicht hinreichend ist, um aus den Leukocyten bakterizide Substanz herauszulösen, können dagegen die Leukocyten, einer Temperatur von + 50° C $\frac{1}{2}$ Stunde lang ausgesetzt, eine bakterienzerstörende Substanz liefern. Am allerstärksten ist der Effekt, wenn man die Leukocyten wiederholtem Einfrieren und Auftauen unterzieht.

Unter Berücksichtigung der erwähnten Umstände habe ich die entgiftende Fähigkeit der Leukocyten bei starker Schädigung untersucht.

a) 1 g Kaninchenleukocyten in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, wurde in 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei + 50° C digeriert (Kochsalzdigest), Zentrifugierung und Abpipettierung.

b) 1 g Kaninchenleukocyten wurde in 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung durch 2maliges Einfrieren in Kältemischung und Auftauen bei 45—50° C extrahiert (Gefrierextrakt). Zentrifugierung und Abpipettierung.

Schneider hat auch als Digestionsflüssigkeit Immunsrum und inaktiviertes Normalserum benutzt und nur das Gefrierextrakt als einzige wirksame Flüssigkeit gefunden. Wenn also die Leukocyten tatsächlich die wirksame Substanz bei der Entgiftung wären, so würden sie doch, mit inaktiviertem Eigensrum gemischt, wirksame Substanz produzieren, wenn sie auch mit 0,85-proz. NaCl-Lösung gemengt keine entgiftende Funktion entfalten.

c) 1 g Kaninchenleukocyten wurde in 1 ccm ($\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 56°C) inaktiviertem Normalserum (welches natürlich vor der Inaktivierung vollständige Entgiftung bewirkte) $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+ 37^{\circ}\text{C}$ digeriert, worauf die Leukocyten abzentrifugiert wurden (Serumdigest).

Tabelle XX.

Extrakt	Serum	Leukocyten	Zeit und Temperat.	Dosis ccm	Resultat
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 3 Std.
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 5 Min.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes, 1 ccm	.	1 Std. 37°C	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	.	dgl.	0,25	o. B.
"	eigenes, aber inaktiviertes 1 ccm	.	"	0,3	† 5 Min.
"	dgl.	.	"	0,25	† 10 "
"	.	Kochsalzextrakt I 1 ccm	"	0,25	† 3 "
"	.	dgl.	"	0,25	† 1 "
"	.	Kochsalzextrakt II 1 ccm	"	0,25	† 5 "
"	.	dgl.	"	0,25	† 3 "
"	.	Kochsalzdigest 1 ccm	"	0,25	† 3 "
"	.	dgl.	"	0,25	† 2 Std.
"	.	Gefrierextrakt 1 ccm	"	0,25	† 10 Min.
"	.	dgl.	"	0,25	† 8 "
"	.	Serumdigest 1 ccm	"	0,25	† 4 "
"	.	dgl.	"	0,25	† 5 "
"	.	Kochsalzextrakt I	"	0,5	o. B.
"	.	dgl.	"	0,3	o. B.
"	.	Kochsalzextrakt II	"	0,5	o. B.
"	.	Kochsalzdigest	"	0,5	o. B.
"	.	Gefrierextrakt	"	0,5	schwer, aber erholt
"	.	Serumdigest	"	0,5	o. B.

Kontrolle

Kontrolle

Die Leukocyten vermögen also *in vitro* weder mit ihren Sekretions- noch mit ihren Extraktionsprodukten die Organextrakte zu neutralisieren. Ob dabei das Blutserum vorhanden ist oder nicht, ist ganz gleichgültig.

Wie aber verhalten sich die Leukocyten *in vivo* zur Entgiftung?

Zur Erzeugung der künstlichen Leukocytose bei Mäusen injizierte ich 0,7—0,25 ccm 5-proz. nukleinsäure Na-Lösung intraperitoneal, und nachdem ich am nächsten Tage Blutzählung ausgeführt und mich von der Leukocytose überzeugt hatte, injizierte ich Lungenextrakte. Die Blutzählung wie auch intravenöse Injektion wurden, wie schon erwähnt, immer an den Schwanzgefäßen ausgeführt.

Tabelle XXI.

Maus	5-proz. nukleinsäures Na	Leukocyten	Extrakt	Resultat
.	.	.	$\frac{1}{4}$ 0,25 ccm dgl.	† 2 Min.) Kontrolle † 3 „ }
No. 1	0,7 ccm	vor 17 500 nach 26 250	„	† 3 „
„ 2	0,5 „	vor 10 750 nach 13 500	„	† 2 „
„ 3	0,25 „	vor 17 500 nach 21 000	„	† 3 „
„ 4	0,25 „	vor 8 500 nach 21 000	„	† 3 „

Also auch *in vivo* können die Leukocyten die Organextrakte nicht entgiften. Meine Resultate stehen in vollem Einklang mit Obata und K. Ichikawa.

Aus den bisher gewonnenen Resultaten schien es mir am wahrscheinlichsten anzunehmen, daß die wirksame Substanz im Serum Komplement sein kann. Ich führte deshalb folgende Untersuchungen nach dieser Richtung aus.

XIX. Beziehung zwischen dem hämolytischen Komplement und der entgiftenden Substanz eines Serums.

Der Komplementgehalt wurde mit 0,5 ccm der 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung und 0,5 ccm hämolytischem Antiserum (Titer 0,0005) bestimmt, wobei nur seine minimale totallösende Dosis angegeben wurde.

Tabelle XXII.

Extrakt	Serum	Komple- ment	bei 37 ° C	Dosis ccm	Resultat
No. 1.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 2 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 3 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	0,07	1 Std.	0,25	+ 5 " }
dgl.	dgl.	0,07	"	0,3	+ 2 " }
$\frac{1}{2}$ 0,5 ccm	eigenes 1,5 ccm	0,07	"	0,5	+ 2 Std.
dgl.	dgl.	0,07	"	0,25	o. B.
$\frac{1}{4}$ 1 ccm	heterologes 1 ccm	0,3	"	0,25	+ 3 Min.
dgl.	dgl.	0,3	"	0,25	+ 1 Std.
$\frac{1}{2}$ 0,5 ccm	heterologes 1,5 ccm	0,3	"	0,5	+ 4 " }
dgl.	dgl.	0,3	"	0,25	o. B.
No. 2.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 3 Std. Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	0,15	1 Std.	0,5	+ 5 Std.
dgl.	dgl.	0,15	"	0,25	+ 24 " }
"	heterologes 1 ccm	0,05	"	0,5	+ 1 " }
"	dgl.	0,05	"	0,25	+ 3 " }
No. 3.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,3	+ 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 3 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	> 0,3	1 Std.	0,3	+ 3 " }
dgl.	dgl.	> 0,3	"	0,25	+ 3 " }
"	heterologes (a) 1 ccm	0,15	"	0,3	+ 3 " }
"	dgl.	0,15	"	0,3	+ 1 " }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	heterologes (b) 1 ccm	> 0,5	"	0,5	+ 1 " }
dgl.	dgl.	> 0,5	"	0,3	+ 4 " }
"	heterologes (c) 1 ccm	> 0,5	"	0,3	o. B.
"	dgl.	> 0,5	"	0,3	o. B.
No. 4.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,4	+ 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 3 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	heterolog. (a) 0,5 ccm	> 0,5	1 Std.	0,6	o. B.
dgl.	dgl.	> 0,5	"	0,55	o. B.
"	heterolog. (b) 0,5 ccm	0,2	"	0,5	+ 1 Std.
"	dgl.	0,2	"	0,3	+ 1 " }
No. 5.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,4	+ 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 3 Std. } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	0,15	1 Std.	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	0,15	"	0,7	o. B.
"	Meersch.-Ser. 1 ccm	0,027	"	0,4	+ 2 Min.
"	dgl.	0,027	"	0,25	+ 3 Std.
No. 6.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,3	+ 3 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 4 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	0,1	1 Std.	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	0,1	"	0,4	o. B.
"	Meersch.-Ser. 1 ccm	0,027	"	0,35	+ 5 Min.
"	dgl.	0,027	"	0,25	+ 5 " }

Zwischen der Menge des hämolytischen Komplements und der entgiftenden Fähigkeit des Serums besteht kein Zusammenhang. Während das Serum, welches ein sehr kräftiges Komplement enthält, fast gar keine entgiftende Wirkung zeigt, übt auf der anderen Seite das fast komplementlose Serum sehr ausgeprägte Entgiftung aus. Auch das sehr komplementreiche Meerschweinchenserum hat keine entgiftende Fähigkeit für das Kaninchenlungenextrakt, welches nichtsdestoweniger vom komplementarmen homologen Serum leicht neutralisiert wird. Weiter habe ich genauer studiert, wie sich das inaktivierte Serum zur Entgiftung verhält.

Tabelle XXIII.

Extrakt	Serum	Komplement	bei 37° C	Dosis	Resultat
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,3	† 3 Min. } Kon-
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 5 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	0,2	1 Std.	0,6	o. B.
dgl.	dgl.	.	.	0,5	o. B.
„	eigenes, durch Wärme inaktiviert. 1 ccm	> 0,5	„	0,5	† 5 Min.
„	dgl.	„	„	0,25	† 7 Min.

Zur Wiederherstellung des obigen inaktivierten Serums zum früheren Titer (0,2) wurde 1 ccm inaktiviertes Serum mit 0,05 ccm Meerschweinchenserum (dessen Titer 0,01) gemischt. Das Gemisch wurde auf seinen Komplementgehalt untersucht, wobei es sich herausstellte, daß zur vollständigen Hämolyse schon 0,15 des Gemisches ausreichte — der Titer also etwas höher war als berechnet und als der des ursprünglichen aktiven Kaninchenserums (das ist, wie oben gezeigt, 0,2). Das Gemisch wurde mit demselben Organextrakt geprüft.

Tabelle XXIV.

Extrakt	Serum	Komplement	bei 37° C	Dosis	Resultat
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	obiges Gemisch 1 ccm	0,15	1 Std.	0,3	† 1 Min.
dgl.	dgl.	0,15	.	0,25	† 10 „
„	„	0,15	„	0,25	† 30 „

Das einmal inaktivierte Serum, welches im aktiven Zustande völlig das Organextrakt neutralisieren konnte, vermag

nicht mehr dasselbe Organextrakt zu paralysieren, wenn es auch durch Zufügung von Meerschweinschenserum wieder auf den anfänglichen Komplementgehalt gebracht wurde. Aus obigen Versuchen kann man schließen, daß, wenn die entgiftende Substanz auch von komplementärem Charakter ist, sie doch nie das hämolytische Komplement selbst sein kann.

Demnächst untersuchte ich, wie viel frisches Kaninchen-serum dem inaktivierten Serum hinzugefügt werden muß, um das einmal verlorene, entgiftende Vermögen wieder herzustellen. Wie aus folgenden Tabellen leicht ersichtlich ist, muß man zur Restitution der entgiftenden Funktion die Menge frischen Serums hinzufügen, die auch allein das Gift neutralisiert. Mit anderen Worten: das inaktivierte Serum verhält sich genau wie Ringersche Lösung.

Tabelle XXV.

Extrakt	Serum		bei 37 °C	Dosis ccm	Resultat
	aktives	inaktives			
No. 1.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,3	† 3 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 3 „ }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	.	1 Std.	0,5	o. B.
dgl.	„ 1 „	.	„	0,4	o. B.
„	„ 0,5 „	.	„	0,4	schwer, aber erholt
„	„ 0,5 „	.	„	0,25	dgl.
„	„ 0,3 „	.	„	0,4	† 1 Min.
„	„ 0,3 „	.	„	0,25	† 3 „
„	„ 0,5 „	eigen. 0,5 ccm	„	0,5	† 3 Std.
„	„ 0,5 „	„ 0,5 „	„	0,25	etwas erkrankt, erholt
„	„ 0,3 „	„ 0,7 „	„	0,25	† 5 Min.
No. 2.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,4	† 1 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 3 Std. }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	.	1 Std.	0,7	o. B.
dgl.	„ 1 „	.	„	0,5	o. B.
„	„ 0,5 „	.	„	0,65	etwas erkrankt, erholt
„	„ 0,5 „	.	„	0,5	dgl.
„	„ 0,3 „	.	„	0,5	† 1 Min.
„	„ 0,3 „	.	„	0,25	† 1 „
„	„ 0,5 „	eigen. 0,5 ccm	„	0,5	† 2 „
„	„ 0,5 „	„ 0,5 „	„	0,5	† 3 „
„	„ 0,3 „	„ 0,7 „	„	0,3	† 1 „

Aus dieser Tatsache kann ich schließen, daß der im Serum enthaltene organextraktentgiftende, durch Erwärmen inaktivierbare Stoff (wahrscheinlich Komplement) im normalen

Zustande, verglichen mit hämolytischem Komplement, so wenig vorhanden ist, daß es gerade zur Wirkung ausreicht.

XX. Haltbarkeit der entgiftenden Substanz in der Eiskammer
(+ 5° C).

Daß die Komplemente sehr labile Stoffe sind und durch bloßes Stehenlassen in einigen Tagen vernichtet werden, ist eine schon allgemein anerkannte Tatsache. Wenn die organextraktentgiftende Substanz tatsächlich Komplement wäre, so müßte sie auch labil sein. Ich entnahm den Kaninchen Blutsera aus den Halsarterien und bewahrte sie im Eisschrank auf Eis lagernd auf. Ich nahm sie ab und zu heraus und prüfte ihre entgiftende Fähigkeit den eigenen ebenso aufbewahrten Organextrakten als auch den jeweils frisch zubereiteten gegenüber.

Tabelle XXVI.

Extrakt	Serum	Komplement	Zeit nach der Entnahme	Dosis	Resultat
No. 1.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 2 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	0,1	sofort	0,25	+ 30 " }
dgl.	dgl.	0,1		0,5	o. B.
"	"	0,15	2 Tage	0,5	o. B.
"	"	0,15		0,5	o. B.
"	"	0,25	3 Tage	0,5	+ 10 Std.
"	"	0,25		0,4	+ 2 "
"	"	0,5	5 Tage	0,25	+ 10 "
"	"	0,5		0,25	+ 3 "
"	"	0	6 Tage	0,5	+ 10 Min.
"	"	0		0,5	+ 2 "
"	"	0	"	0,4	+ 7 "
No. 2.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	+ 2 Min. Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm		sofort	0,5	o. B.
dgl.	dgl.			0,5	o. B.
"	"		1 Tag	0,5	o. B.
"	"			0,25	o. B.
"	"		2 Tage	0,5	etwas, erholt
"	"			0,45	o. B.
"	"		3 Tage	0,5	schwer, erholt
"	"			0,5	
"	"		6 Tage	0,5	+ 2 Std. "
"	"			0,5	+ 10 "
"	"		7 Tage	0,5	+ 3 Min.
"	"		"	0,3	+ 30 "

Extrakt	Serum	Komplement	Zeit nach der Entnahme	Dosis	Resultat
No. 3.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,3	+ 1 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	.	0,25	+ 2 " }
dgl.	dgl.	0,1	sofort	0,5	o. B.
"	"	0,1	"	0,25	o. B.
"	"	0,3	6 Tage	0,5	+ 20 Std.
"	"	0,3	"	0,25	o. B.
"	"	0,45	11 Tage	0,5	+ 8 Std.
"	"	0,45	"	0,25	etwas, erholt
"	"	> 0,5	12 Tage	0,5	+ 2 Min.
"	"	> 0,5	"	0,3	+ 5 "
No. 4.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,3	+ 1 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	.	0,25	+ 5 " }
dgl.	dgl.	0,2	sofort	0,5	o. B.
"	"	> 0,8	2 Tage	0,25	o. B.
"	"	> 0,8	"	0,5	o. B.
"	"	0	7 Tage	0,25	o. B.
"	"	0	"	0,5	o. B.
"	inaktiv	0	"	0,25	o. B.
"	1 ccm	0	"	0,25	+ 2 Min.
"	dgl.	0	"	0,25	+ 1 "
"	1 ccm	0	10 Tage	0,5	+ 5 Std.
"	dgl.	0	"	0,25	+ 10 "
"	inaktiv	0	"	0,25	+ 10 "
"	1 ccm	0	"	0,25	+ 3 Min.
"	dgl.	0	"	0,25	+ 2 "

Die obigen Tabellen tun deutlich dar, daß die entgiftende Substanz ganz wie das hämolytische Komplement mit der Zeit ihre Kraft einbüßt, aber etwas resistenter als das letztere ist. Der Zeitraum, während dessen die entgiftende Substanz verloren geht, variiert natürlich von Fall zu Fall relativ weit, liegt aber in den meisten Fällen innerhalb 3 bis 10 Tagen (im Mittel 7 Tage).

XXI. Adsorption der entgiftenden Substanz und des Komplements.

Steinhardt, Ehrlich und seine Schüler, sowie Lüdke gaben an, daß gewisse Komplemente durch Tonfiltration adsorbiert werden können. Andererseits haben Landsteiner und Stankovic, Landsteiner und Ulirz eine große Zahl von Substanzen in bezug auf ihr Adsorptionsvermögen gegenüber Meerschweinchenkomplement untersucht und dar-

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.

3

unter Kaolin, Kasein und Cholesterin als gut adsorbierend befunden. Mit Kaolin haben Friedberger und seine Schüler auch ähnliche Resultate erhalten.

Ich untersuchte weiter unten, wie die Tonfiltration und diese Substanzen sich gegenüber dem Komplemente und der entgiftenden Substanz verhalten. Die von mir benutzten 3 Substanzen waren von der Firma Merck bezogen. Das Mengenverhältnis, in dem das Adsorbens und das Serum gemischt wurde, variiert von Fall zu Fall; das Gemisch wurde in allen Fällen in gleicher Weise 30 Minuten lang bei Zimmer-temperatur geschüttelt und dann abzentrifugiert.

a) Filtration durch Berkefeldfilter.

Tabelle XXVII.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	nicht filtr.	filtriert	nicht filtr.	filtriert		
No 1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	+ 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{2}$ 1" ccm	1 ccm	.	0,4	.	0,25	+ 2 " } trolle
dgl.	"	.	0,4	.	0,5	+ 3 Std.
"	.	1 ccm	.	0,5	0,25	o. B.
"	.	"	.	0,5	0,25	+ 3 Min.
"	.	"	.	0,5	0,25	+ 5 "
No 2.						
$\frac{1}{4}$ ccm	1 ccm	.	0,2	.	0,25	+ 1 Std. Kontr.
dgl.	"	.	0,2	.	0,65	o. B.
"	.	1 ccm	.	0,3	0,55	o. B.
"	.	"	.	0,3	0,6	+ 20 Std.
"	.	"	.	0,3	0,5	+ 50 "
No 3.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,4	+ 1 Min. } Kon-
$\frac{1}{2}$ 1" ccm	1 ccm	.	0,15	.	0,25	+ 3 Std. } trolle
dgl.	"	.	0,15	.	0,7	o. B.
"	0,5 ccm	.	0,15	.	0,5	o. B.
"	"	.	0,15	.	0,65	etw. erkr., erholt
"	"	1 ccm	.	0,2	0,5	"
"	.	"	.	0,2	0,7	o. B.
"	.	0,5 ccm	.	0,2	0,5	o. B.
"	.	"	.	0,2	0,5	+ 2 Min.
"	.	"	.	0,2	0,3	+ 5 "

Die aus den obigen Versuchsreihen zu ziehenden Schlüsse lassen sich dahin zusammenfassen, daß die entgiftende Substanz und das hämolytische Komplement durch Berkefeld-Filtration

teilweise zurückgehalten werden, d. h. beide gehen parallel miteinander.

b) Schütteln mit Kaolin.

Tabelle XXVIII.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt		
No. 1. Serum: Kaolin = 5:2.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	+ 1 Min. } Kon- + 10 " } trolle o. B. o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,2	.	0,25	
dgl.	"	.	0,2	.	0,6	
"	.	1 ccm	.	.	0,55	
"	.	"	.	$\geq 0,3$	0,6	+ 1 Min.
"	.	"	.	$\geq 0,3$	0,4	+ 3 Std.
No. 2. Serum: Kaolin = 1:1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,35	+ 1 Min. } Kon- + 3 " } trolle o. B. o. B.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,1	.	0,3	
dgl.	"	.	0,1	.	0,5	
"	.	1 ccm	.	0,5	0,3	
"	.	"	.	0,5	0,5	+ 1 Min.
"	.	"	.	0,5	0,25	+ 3 "

Ergebnis: Auch beim Schütteln mit Kaolin geht die Abschwächung des Komplements und der entgiftenden Substanz des Serums ganz parallel.

c) Schütteln mit Kasein.

Tabelle XXIX.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt		
Serum: Kasein = 10:1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,4	} Kon- trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,25	.	0,25	
dgl.	"	.	0,25	.	0,5	
"	.	1 ccm	.	0	0,25	
"	.	"	.	0	0,5	
"	.	"	.	0	0,25	+ 3 Std.
"	.	"	.	0	0,25	+ 3 "

Auch beim Schütteln mit Kasein gehen die beiden Substanzen Hand in Hand.

d) Schütteln mit Cholesterin.

Tabelle XXX.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt		
Serum: Cholesterin = 10 : 1						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	+ 3 Std. } Kon- + 5 " } trolle o. B. o. B. + 5 Std. + 10 "
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,1	.	0,25	
dgl.	1 "	.	0,1	.	0,5	
"	.	1 ccm	.	0,25	0,25	
"	.	1 "	.	0,25	0,65	

Also kann das Cholesterin zugleich Komplement und entgiftende Substanz aufnehmen.

e) Schütteln mit Tierkohle.

Unter den verschiedenen Adsorbentien erwies sich die Tierkohle nach Ehrlich und Sachs, sowie Wilde zur Adsorption der Komplemente mehr oder weniger ungeeignet. Auch ich habe mit Tierkohle, wie folgt, ganz ähnliche Resultate gewonnen.

Tabelle XXXI.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt	nicht ge- schüttelt	ge- schüttelt		
No. 1. Serum: Tierkohle = 3:2						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	+ 2 Min. } Kon- + 5 " } trolle o. B. o. B. + 19 Std. + 11 "
$\frac{1}{2}$ 1" ccm	1 ccm	.	0,2	.	0,25	
dgl.	1 "	.	0,2	.	0,6	
"	.	1 ccm	.	> 0,2	0,55	
"	.	1 "	.	dgl.	0,5	
No. 2. Serum: Tierkohle = 1:1						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	+ 1 Min. } Kon- + 2 " } trolle o. B. o. B. + 8 Std. + 16 "
$\frac{1}{2}$ 1" ccm	1 ccm	.	0,1	.	0,25	
dgl.	1 "	.	0,1	.	0,5	
"	.	1 ccm	.	> 0,1	0,3	
"	.	1 "	.	dgl.	0,5	

Zwar kann die Tierkohle beide Substanzen adsorbieren, aber bei weitem schwächer als die anderen, oben genannten Substanzen.

Aus obigen Versuchen geht hervor, daß bei der Adsorption in vitro in den meisten Fällen das hämolytische Komplement

und die entgiftende Substanz ganz parallel gehen. Des weiteren habe ich studiert, wie sich diese beiden Stoffe in vivo zueinander verhalten. Da die im Vorangehenden untersuchten Adsorbentien in Wasser fast unlöslich sind, konnten sie zu diesem Zwecke nicht gebraucht werden. Ich suchte in der Literatur deshalb wasserlösliche Adsorbentien und fand Glykogen und Wittepepton als geeignet.

XXII. Wirkung von Glykogen auf Komplement und entgiftende Substanz.

Wendelstadt, sowie Wassermann und Citron haben gefunden, daß das Glykogen in vitro wie auch in vivo Komplement aufnehmen kann. Ich habe meine Untersuchungen mit dem als Glykogenum purissimum von der Firma Merck bezogenen Präparate ausgeführt. Zuerst habe ich die komplementbindende Wirkung des Glykogens in vitro untersucht. Zwei Reihen von je 10 Reagenzgläsern wurden, wie aus der Tabelle ersichtlich, angesetzt, die eine mit, die andere ohne Glykogen; das Glykogen wurde als 5-proz. Lösung in physiologischer Kochsalzlösung angewendet.

Tabelle XXXII.

Reagenzglas A No.	Serum	0,85-proz. NaCl-Lösung	5-proz. Glykogen-Lösung		Hämolysin (0,0005)	5-proz. Blutkörp.-Aufschw.	Hämolysse
1	0,1	0,9	4 gtt.	1 Std. bei 37° C	0,5	0,5	—
2	0,2	0,8	dgl.		"	"	—
3	0,3	0,7	"		"	"	—
4	0,4	0,6	"		"	"	—
5	0,5	0,5	"		"	"	—
6	0,6	0,4	"		"	"	—
7	0,7	0,3	"		"	"	—
8	0,8	0,2	"		"	"	—
9	0,9	0,1	"		"	"	—
10	1,0	0	"		"	"	—
Reagenzglas B No.		0,85-proz. NaCl-Lösung					
1	0,1	0,9	4 gtt.	1 Std. bei 37° C	0,5	0,5	—
2	0,2	0,8	dgl.		"	"	—
3	0,3	0,7	"		"	"	+
4	0,4	0,6	"		"	"	++
5	0,5	0,5	"		"	"	++
6	0,6	0,4	"		"	"	++
7	0,7	0,3	"		"	"	++
8	0,8	0,2	"		"	"	++
9	0,9	0,1	"		"	"	++
10	1,0	0	"		"	"	++

Während die Hämolyse bei der Reihe mit Glykogenlösung völlig ausbleibt, tritt sie, wie ersichtlich, in der Kontrollreihe bis 0,4 ccm auf. Ganz derselbe Versuch wurde noch einmal mit anderem Blutserum angestellt und dasselbe Resultat erzielt. Wenn man aber Kaninchenserum, Glykogenlösung, Hämolysin und Blutkörperchenaufschwemmung auf einmal zusammenbringt, so tritt Hämolyse bei allen Gläsern gleich stark auf.

Hierdurch ist sichergestellt, daß Glykogen das mit ihm für einige Zeit in Berührung gelassene Komplement völlig binden kann. Weiter habe ich Kaninchen nach Wendelstadt 3 g Glykogen (in 20-proz. Lösung mit 0,85-proz. NaCl-Lösung) in 3 Portionen mit halbstündigem Intervall in die Ohrvenen injiziert und 30 Minuten nach der letzten Injektion das Blut entnommen. Das Blutserum wurde vor und nach der Glykogeninjektion in bezug auf Komplement und entgiftende Substanz untersucht.

Tabelle XXXIII.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
N o. 1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 1 Std. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 1 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,15	.	0,5	o. B.
dgl.	dgl.	.	0,15	.	0,25	o. B.
"	.	1 ccm	.	0,6	0,5	† 4 Std.
"	.	dgl.	.	0,6	0,25	† 10 „
N o. 2.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,3	† 1 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 2 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,1	.	0,4	schwerst, erholt
dgl.	dgl.	.	0,1	.	0,25	o. B.
"	.	1 ccm	.	> 0,6	0,4	† 1 Min.
"	.	dgl.	.	> 0,6	0,25	schwerst, erholt

Das in vitro wirksame Glykogen vermag also auch in vivo Komplement und entgiftende Substanz zu adsorbieren.

XXIII. Wirkung von Wittepepton auf Komplement und entgiftende Substanz.

Auch das Pepton kann nach Löwenstein, Wendelstadt, sowie Wassermann und Citron in vitro wie auch in vivo Komplement binden.

Tabelle XXXIV.

Reagenz- glas No.	Serum	0,85-proz. NaCl- Lösung	40-proz. Pepton- Lösung		Hämo- lysin (0,0005)	5-proz. Blutkörp.- Aufschw.	Hämolyse
Hauptreihe							
1	0,1	0,9	4 gtt.	37° C bei 3 Stunden	0,5	0,5	—
2	0,2	0,8	dgl.		—		
3	0,3	0,7	„		—		
4	0,4	0,6	„		—		
5	0,5	0,5	„		—		
6	0,6	0,4	„		—		
7	0,7	0,3	„		—		
8	0,8	0,2	„		—		
9	0,9	0,1	„		—		
10	1,0	0	„		—		
Kontrollreihe							
		0,85-proz. NaCl-Lsg.					
1	0,1	0,9	4 gtt.	37° C bei 3 Std.	0,5	0,5	—
2	0,2	0,8	dgl.		„	„	+
3	0,3	0,7	„		„	„	++
4	0,4	0,6	„		„	„	++
5	0,5	0,5	„		„	„	++
6	0,6	0,4	„		„	„	++
7	0,7	0,3	„		„	„	++
8	0,8	0,2	„		„	„	++

Der ganz gleiche Versuch wurde noch einmal mit gleichem Resultate wiederholt. Aus obigem ist ersichtlich, daß die Wittepeptonlösung in vitro beim Kontakt mit Serum während gewisser Zeit Komplement fast völlig entfernen kann.

Nun fragt es sich weiter, ob das Wittepepton im Tierkörper ebenfalls die entgiftende Substanz und Komplement aufnehmen kann. Ich habe den Kaninchen 10 ccm 40-proz. Wittepepton-Lösung (mit 0,85-proz. NaCl-Lösung) intravenös injiziert und dann 30 Minuten nach der Injektion das Blut entnommen. Das abgeschiedene Serum wurde auf seinen Gehalt an Komplement und entgiftender Substanz untersucht.

Tabelle XXXV.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
No. 1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	+ 1 Std. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	+ 1 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,25	.	0,5	+ 4 "
dgl.	dgl.	.	0,25	.	0,3	+ 8 "
"	.	1 ccm	.	> 0,6	0,3	+ 1 Min.
"	.	dgl.	.	> 0,6	0,3	+ 3 "

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
No. 2.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,3	+ 1 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	+ 3 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,3	.	0,5	o. B.
dgl.	0,5 ccm	.	0,3	.	0,5	+ 1 Min.
"	dgl.	.	0,3	.	0,25	+ 6 Std.
"	.	1 ccm	.	> 0,6	0,5	o. B.
"	.	0,5 ccm	.	> 0,6	0,25	+ 1 Min.
"	.	dgl.	.	> 0,6	0,25	+ 1 "

Ich konnte hierbei feststellen, daß das Wittepepton ganz wie Glykogen in vivo Komplement und entgiftende Substanz binden kann.

XXIV. Wirkung von Aethyläther auf Komplement und entgiftende Substanz.

Kyes und Sachs, Sclavo, sowie Ottolenghi und Mori haben gezeigt, daß durch Aethyläther auch das Komplement im Serum unwirksam gemacht werden kann. Es fragt sich nun, ob diese adsorbierende Wirkung auch der entgiftenden Substanz gegenüber besteht. Das Kaninchenserum wurde mit der doppelten Menge reinen Aethyläthers 3 Stunden lang im Schüttelapparate geschüttelt, und nachdem es einige Zeit gestanden hatte, wurde der obenstehende Aether abgehoben, das Serum im Exsikkator 3 Stunden lang unter vermindertem Druck (Wasserstrahlpumpe) gehalten, um etwaige Reste des Aethers aus der Flüssigkeit vollständig zu entfernen. Dieses mit Aether geschüttelte Serum wurde mit einfachem Serum als Kontrolle auf sein Komplement und seine entgiftende Fähigkeit untersucht.

Tabelle XXXVI.

Reagenzglas	Serum (mit Aether geschüttelt)	0,85-proz. NaCl-Lösung	Hämolysin (0,0005)	Blutkörperchen-Aufschw.	Hämolysse
1	0,1	0,9	0,5	0,5	—
2	0,2	0,8	"	"	—
3	0,3	0,7	"	"	—
4	0,4	0,6	"	"	—
5	0,5	0,5	"	"	—
6	0,6	0,4	"	"	—
7	0,7	0,3	"	"	—
8	0,8	0,2	"	"	—

Reagenz- glas	Serum (nicht geschüttelt)	0,85-proz. NaCl- Lösung	Hämolysin (0,0005)	Blut- körperchen- Aufschw.	Hämolyse
1	0,1	0,9	0,5	0,5	unvollst.
2	0,2	0,8	"	"	komplett
3	0,3	0,7	"	"	"
4	0,4	0,6	"	"	"
5	0,5	0,5	"	"	"

Hieraus geht hervor, daß der Aethyläther, wie Sclavo, sowie Ottolenghi und Mori bereits gesagt haben, das Kaninchenserum seines hämolytischen Komplements fast vollständig berauben kann.

Tabelle XXXVII.

Extrakt	Serum		Dosis	Resultat
	nicht geschüttelt	geschüttelt		
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	+ 1 Min. } Kon-
"	.	.	0,25	+ 1 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,25	+ 1 Std.
dgl.	dgl.	.	0,25	+ 30 Min.
"	.	1 ccm	0,25	+ 3 "
"	.	dgl.	0,25	+ 2 "

Auch durch Aether also können Komplement und entgiftende Substanz in ihrer Wirkung beeinträchtigt werden — das erstere bei weitem deutlicher als das letztere.

XXV. Wirkung von ultravioletten Strahlen auf Komplement und entgiftende Substanz.

Es ist schon bekannt, daß die ultravioletten Strahlen verschiedene chemische und biologische Wirkungen ausüben können. Daß die verschiedensten Fermente für diese Strahlen sehr empfindlich sind, ist schon von Brand, Jodlbauer und Tappeiner, Green, Oppenheimer etc. gründlich studiert worden und darf als eine bewiesene Tatsache angesehen werden. Daß die ultravioletten Strahlen auch auf Komplemente vernichtend einwirken, haben Baroni et Jonesco-Mihaiesti, Abelin und Stiner, Friedberger, sowie Nakano und Kagawa erwiesen. Dabei haben diese Autoren natürlich Ozon- und Wärmewirkung, die bei der Erzeugung der ultravioletten Strahlen leicht auftreten können, möglichst zu vermeiden gesucht.

Basierend auf dieser Tatsache, habe ich den Einfluß derselben Strahlen auf Komplement und entgiftende Substanz

verglichen. Zur Erzeugung der ultravioletten Strahlen bediente ich mich der künstlichen Höhensonne und der Quarzlampe.

Meinem Lehrer, Herrn Prof. K. Dohi und meinen Kollegen an der dermatologischen Klinik, die mir diese Apparate freundlichst zur Verfügung stellten, sage ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank.

Um Wärmewirkung zu vermeiden, wurde das den Strahlen aussetzende Serum im Eis gehalten, so daß die Temperatur nicht über 37° C stieg. Die mit Serum gefüllte Schale wurde eine Stunde lang in 25 cm Distanz von der Strahlenquelle gehalten.

Kagawa berichtete, daß 30 Minuten zur deutlichen Abschwächung der komplementären Wirkung genügen. Aber ich habe sicherheitshalber eine Stunde lang ausgesetzt. Daneben habe ich auch als Kontrolle Kaninchenlungenextrakt den Strahlen ausgesetzt.

Tabelle XXXVIII.
Künstliche Höhensonne.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,5	† 1 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 5 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,1	.	0,55	o. B.
dgl.	dgl.	.	0,1	.	0,5	o. B.
"	.	1 ccm	.	0,3	0,5	† 7 Min.
"	.	dgl.	.	0,3	0,5	† 5 „

Extrakt	Dosis		Resultat
	vor	nach	
$\frac{1}{4}$	0,5	.	† 1 Min.
"	0,25	.	† 5 „
"	.	0,5	† 1 „
"	.	0,25	† 5 „

Meerschweinchenserum gleichzeitig mit obigem Kaninchen- serum eine Stunde lang der künstlichen Höhensonne ausgesetzt und auf die Veränderung seines Komplementgehaltes geprüft.

Meerschweinchenserum

Komplement

vor	nach
0,01	0,035

Tabelle XXXIX.

Quarzlampe.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis ccm	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,4	† 2 Min.
"	.	.	.	.	0,3	† 3 "
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,05	.	0,5	† 3 Std.
dgl.	"	.	0,05	.	0,25	o. B.
"	.	1 ccm	.	0,15	0,5	† 3 Min.
"	.	"	.	0,15	0,25	† 7 "

Extrakt	Dosis		Resultat
	vor	nach	
$\frac{1}{4}$	0,4	.	† 2 Min.
"	0,3	.	† 3 "
"	.	0,4	† 5 "
"	.	0,3	† 30 "

Wie aus obigen Tabellen ersichtlich ist, können das hämolytische Komplement und die entgiftende Substanz durch ultraviolette Strahlen in gleicher Weise vermindert werden. Auch üben die Strahlen keinen Einfluß auf die Giftigkeit des Extraktes aus.

XXVI. Wirkung des Hungers auf die entgiftende Substanz und den Komplementgehalt des Blutserums.

Nach Bentivenga und Carini, sowie Lüdke erfolgt bei der Nahrungsentziehung eine Verminderung der hämolytischen Fähigkeit des Serums, die auf Komplementmangel beruhen soll. Izar wies andererseits nach, daß auch die entgiftende Fähigkeit des Serums beim Hunger abnimmt. Darüber habe ich folgende Untersuchung ausgeführt.

Wie schon bewiesen ist, nimmt die Giftigkeit der Organextrakte auch mit der Zeit ab. Also wurde das Serum zum Vergleich seiner entgiftenden Fähigkeit zwischen gewissen Intervallen sowohl mit dem alten, früher benutzten Extrakte, als auch mit dem frisch hergestellten gleichzeitig geprüft und dadurch eine sichere Beurteilung ermöglicht.

Tabelle XL.

Extrakt	Serum	Komplement	bei 37° C	Dosis	Resultat
No. 1.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 2 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	0,2	1 Std.	0,25	† 3 „ }
dgl.				0,6	o. B.
„	0,5 ccm	„	„	0,55	o. B.
„	„	„	„	0,5	† 5 Min.
„	„	„	„	0,25	schwerst, erholt
Nach 10-tägigem Fasten (nur Wasser gegeben)					
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	0,6	1 Std.	0,5	† 10 Std.
dgl.	„	0,6	„	0,25	† 24 „
No. 2.					
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 5 Min. } Kontrolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	0,2	1 Std.	0,25	† 7 „ }
dgl.				0,5	† 15 Std.
„	0,5 ccm	0,2	„	0,5	† 18 „
„	„	0,2	„	0,3	† 5 Min.
Nach 10-tägigem Hunger (nur Wasser gegeben)					
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	0,5	1 Std.	0,5	† 1 Std.
dgl.	„	0,5	„	0,5	† 2 „
„	0,5 ccm	0,5	„	0,3	† 7 Min.

Also nehmen das hämolytische Komplement und die entgiftende Substanz im Serum durch Hunger ab; besonders deutlich tritt dies bei ersterem zutage.

XXVII. Wirkung des Phosphors auf Komplement und entgiftende Substanz

Ehrlich und Morgenroth stellten fest, daß unter dem Einfluß der Phosphorvergiftung der Komplementgehalt des Serums verschwindet. Bestätigende Versuche wurden von Lüdke, sowie Bergmann und Savini mitgeteilt.

Ich habe den Kaninchen 1- oder 2-proz. Phosphorolivenöl intravenös oder 4 ccm desselben subkutan injiziert und bei den ersteren nach 5 Stunden und bei den letzteren am nächsten Tage (ca. 24 Stunden danach) Blut entnommen. Die Sera vor und nach der Phosphorinjektion wurden auf ihr Komplement und ihre entgiftende Substanz geprüft.

Tabelle XLI.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
Kaninchen No. 1. Phosphoröl 1 ccm intravenös injiziert.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 3 Min.) Kon- † 20 " }trolle o. B. o. B. † 1,5 Std. etwas, erholt o. B.
"	.	.	.	.	0,25	
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,2	.	0,5	
dgl.	"	.	"	.	0,25	
"	.	1 ccm	.	0,4	0,5	
"	.	"	.	"	0,25	
"	.	doppelt verdünnt	.	"	0,5	
Kaninchen No. 2. Phosphoröl 2 ccm intravenös injiziert.						
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,3	.	0,5	o. B.
dgl.	"	.	"	.	0,5	o. B.
"	.	1 ccm	.	> 0,5	0,5	† 1 Min.
"	.	"	.	"	0,5	† 1,5 "
"	.	doppelt verdünnt	.	.	0,5	o. B.
Kaninchen No. 3. Phosphoröl 4 ccm subkutan injiziert.						
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,3	.	0,65	o. B.
dgl.	"	.	"	.	0,5	o. B.
"	.	1 ccm	.	0,8	0,65	† 2 Min.
"	.	"	.	"	0,5	† 3 "
"	.	doppelt verdünnt	.	.	0,5	o. B.
Kaninchen No. 4. Phosphoröl 4 ccm subkutan injiziert.						
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,15	.	0,6	o. B.
dgl.	"	.	"	.	0,5	o. B.
"	.	1 ccm	.	0,4	0,5	† 2 Min.
"	.	"	.	"	0,3	† 3 "
"	.	doppelt verdünnt	.	.	0,5	o. B.

Die Tiere starben alle in einigen Tagen und die Leber zeigte, pathologisch-anatomisch untersucht, ohne Ausnahme immer typische Verfettung. Die mit Phosphor vergifteten Tiere verlieren konstant ihr hämolytisches Komplement und ihre entgiftende Fähigkeit gegenüber den Organextrakten. Aber das Serum der vergifteten Tiere ist nie giftig.

Sämtliche oben mitgeteilten Versuche (bei der Komplementverminderung) tun im großen und ganzen übereinstimmend dar, daß in den Fällen, in denen das hämolytische Komplement abnimmt, auch immer die entgiftende Fähigkeit des Serums gegenüber Organextrakt abgeschwächt wird. Es ist deshalb von Interesse, zu erforschen, wie sich die entgiftende Substanz verhält, wenn das hämolytische Komplement im Serum

zunimmt. Eine künstliche dauernde Erhöhung des Komplementgehaltes war bisher nicht möglich. Wohl gelingt es durch Injektion indifferenten Substanzen (Blutplasma, Bouillon, Aleuronat, Pepton, Kasein, Nuklein, physiologische Kochsalzlösung, Staphylokokken, Terpentinöl und andere) eine vorübergehende Erhöhung des Komplementvorrats hervorzurufen, wie das bereits Nolf und Müller, sowie auch Sweet angegeben haben. Die Darreichung von Schilddrüsensubstanz und auch von Jodpräparaten führt nach den Arbeiten von Müller, Fassin und Donzello, sowie Venuti zur Erhöhung des Komplementgehaltes. Im Gegensatz zu der Abnahme des Komplements ist die Zunahme, die schon angedeutet wurde, schwerer und nur vorübergehend zu erzeugen. Ich stellte einige Versuche darüber an.

XXVIII. Wirkung von Bouilloninjektion auf Komplement und entgiftende Substanz.

Das Blutserum wurde immer 24 Stunden nach der letzten Injektion entnommen. In bezug auf das Komplement habe ich, wie schon vorher bemerkt wurde, stets die minimale totallösende Dosis angegeben.

Tabelle XLII.

No. 1. Dem Kaninchen wurden je 20 ccm Bouillon 3 Tage hintereinander intraperitoneal injiziert.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,3	† 5 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 20 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	> 0,3	.	0,3	† 1 Std.
dgl.	"	.	"	.	0,25	† 1,5 "
"	.	1 ccm	.	0,2	0,5	o. B.
"	.	"	.	"	0,25	o. B.

No. 2. Dem Kaninchen wurden je 20 ccm Bouillon 5 Tage hintereinander interperitoneal injiziert.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 10 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 20 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,15	.	0,5	o. B.
dgl.	0,5 "	.	"	.	0,5	† 24 Std.
"	0,5 "	.	"	.	0,4	† 24 "
"	.	1 ccm	.	0,05	0,5	o. B.
"	.	0,5 "	.	"	0,5	o. B.
"	.	0,3 "	.	"	0,5	o. B.

No. 3. Den 2 Kaninchen (A und B) wurden je 20 ccm Bouillon 3 Tage hintereinander intraperitoneal injiziert.

Extrakt	Serum		bei 37 ° C	Dosis	Resultat
	aktiv	inaktiv			
$\frac{1}{4}$	.	.	.	0,25	† 2 Min. } Kon-
"	.	.	.	0,25	† 3 „ } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	eigenes 1 ccm	.	1 Std.	0,45	o. B.
dgl.	dgl.	.	"	0,35	o. B.
"	.	eigen. 1 ccm	"	0,25	† 2 Min.
"	eigen. 0,5 ccm	" 0,5 "	"	0,5	o. B.
"	" 0,2 "	" 0,8 "	"	0,25	† 1 Min.
"	" 0,2 "	" 0,8 "	"	0,15	† 3 "
"	Kaninchen A	.	.	.	.
"	0,2 ccm	eigen. 0,8 ccm	"	0,25	schwer erkrankt, erholt
"	"	dgl.	"	0,15	o. B.
"	Kaninchen B	.	.	.	.
"	0,2 ccm	eigen. 0,8 ccm	"	0,25	o. B.
"	"	dgl.	"	0,25	o. B.

Kaninchen	Komplement	
	vor	nach
A	0,1	0,05
B	0,25	0,01

Es kann also durch Bouilloninjektion die entgiftende Substanz mit dem Komplemente schritthaltend in die Höhe getrieben werden.

XXIX. Wirkung von Schilddrüsenfütterung auf Komplement und entgiftende Substanz.

Müller und Fassin haben zutage gefördert, daß durch Fütterung von Schilddrüsensubstanz auch Komplementvermehrung resultiert, und nachdem Müller den bei der Thyreoid-ektomie eintretenden Komplementschwund durch Schilddrüsenbehandlung verhindern konnte, ist die innige Beziehung zwischen beiden um so eklatanter erwiesen.

Einem Kaninchen (K. G. 2580) wurde 1 g Schilddrüsenpulver (Glandulae thyreoideae siccae Parke Davis & Co.) mit Futter gut gemischt 5 Tage hintereinander gegeben. Am 6. Tage nahm das Körpergewicht bis auf 2100 g ab. Unruhe, Palpitation und leichte Diarrhoe deutlich. Am selben Tage Blutentnahme.

Tabelle XLIII.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 10 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 20 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	0,25	.	0,75	o. B.
dgl.	dgl.	.	0,25	.	0,5	o. B.
"	0,5 ccm	.	0,25	.	0,3	† 1 Min.
"	dgl.	.	0,25	.	0,2	† 2 "
"	.	1,0 ccm	.	0,15	0,7	o. B.
"	.	0,5 "	.	0,15	0,5	o. B.
"	.	0,5 "	.	0,15	0,25	o. B.
"	.	0,3 "	.	0,15	0,5	† 1 Min.
"	.	0,3 "	.	0,15	0,25	† 3 "

Dem 2. Kaninchen (K. G. 2570) wurde 1 g Schilddrüsenpulver jeden Tag 6 Tage lang gegeben. Am 7. Tage Blutentnahme. K. G. 1800. Hyperthyreoidismus deutlich.

Extrakt	Serum		Komplement		Dosis	Resultat
	vor	nach	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 10 Min. } Kon-
"	.	.	.	.	0,25	† 20 " } trolle
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1,0 ccm	.	0,3	.	0,7	o. B.
dgl.	0,5 "	.	0,3	.	0,5	† 24 Std.
"	0,5 "	.	0,3	.	0,4	† 24 "
"	.	1,0 ccm	.	0,2	0,7	o. B.
"	.	0,5 "	.	0,2	0,5	o. B.
"	.	0,5 "	.	0,2	0,25	o. B.

Also auch bei der Darreichung von Schilddrüsensubstanz geht die Komplementzunahme mit der Vermehrung der entgiftenden Substanz Hand in Hand.

XXX. Wirkung von Pilokarpin auf Komplement und entgiftende Substanz.

Lüdke berichtete 1905, daß er in einigen Fällen durch subkutane Pilokarpininjektionen eine gewisse Erhöhung des Komplementvorrats bei Kaninchen zu veranlassen vermochte. Ich habe den Einfluß, den die Pilokarpineinspritzung auf Komplement und entgiftende Substanz ausübt, untersucht.

Tabelle XLIV.

Aktives Kaninchen- serum	Hämolyisin (0,0005)	Blutkörper- chen-Auf- schwemmung	Hämolyse bei 37° C in	Aktives Kaninchen- serum	Hämolyisin (0,0005)	Blutkörper- chen-Auf- schwemmung	Hämolyse bei 37° C in
--------------------------------	------------------------	--	--------------------------	--------------------------------	------------------------	--	--------------------------

No. 1.

Vor der Injektion				$\frac{1}{2}$ Std. nach Injektion von 1 ccm einer 2-proz. Pilokarpinlösung			
0,3	0,5	0,5	30 Min. kompl.	0,3	0,5	0,5	25 Min. kompl.
0,2	"	"	1 Std. inkompl.	0,2	"	"	1 Std. kompl.
0,1	"	"	2 " fast kpl.	0,1	"	"	2 " kompl.
0,08	"	"	2 " inkompl.	0,08	"	"	2 " fast kpl.
0,05	"	"	2 " spurw. +	0,05	"	"	2 " inkompl.
0,03	"	"	2 " —	0,03	"	"	2 " spurw. +

No. 2.

Vor der Injektion				$\frac{3}{4}$ Std. nach Injektion von 1 ccm einer 2-proz. Pilokarpinlösung			
0,3	0,5	0,5	20 Min. kompl.	0,3	0,5	0,5	15 Min. kompl.
0,2	"	"	30 " inkompl.	0,2	"	"	30 " "
0,1	"	"	1 Std. "	0,1	"	"	1 Std. "
0,08	"	"	2 " "	0,08	"	"	2 " "
0,05	"	"	2 " "	0,05	"	"	2 " inkompl.
0,03	"	"	2 " —	0,03	"	"	2 " "

Extrakt	Serum		Dosis ccm	Resultat
	vor	nach		
$\frac{1}{4}$	.	.	0,25	† 30 Sek. } Kontrolle
"	.	.	0,15	† 1 Min. }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm (No. 1)	.	0,5	† 5 Std.
dgl.	dgl.	.	0,45	o. B.
"	.	1 ccm (No. 1)	0,5	† 10 Std.
"	.	dgl.	0,45	o. B.
"	1 ccm (No. 2)	.	0,5	† 1 Std.
"	dgl.	.	0,5	etwas, erholt
"	.	1 ccm (No. 2)	0,5	o. B.
"	.	dgl.	0,5	o. B.

Ich konnte eine Steigerung des Komplementgehaltes nach der Pilokarpininjektion bei Kaninchen konstatieren, jedoch war dieselbe entgegen den Angaben von Lüdke, wie L. Müller schon bemerkt hat, ganz gering. Auch die entgiftende Fähigkeit scheint sich nach der Pilokarpineinspritzung etwas gesteigert zu haben.

XXXI. Komplexe Konstitution der entgiftenden Substanz.

Nach den vorstehend mitgeteilten Versuchen ist die entgiftende Substanz gegen Organgifte allem Anschein nach eine Art Komplement.

Wie zuerst Ferrata 1907 gezeigt hat, gelingt es, durch Entfernung der Globulinfraction aus dem Meerschweinchenserum mittels Dialyse 2 Komponenten des Komplements nachzuweisen. Im nächsten Jahre kamen Sachs und Altmann durch die Salzsäurefällung zu denselben Resultaten. Auch später (1911) vermochte Liefmann durch Kohlen säurefällung das Serum der Komplementfunktion zu berauben. Diese wichtige Feststellung hat inzwischen eine vielseitige Bestätigung erfahren (Liefmann und Cohn, Liefmann und Stützer, Marks, Braun, Sachs und Bolkowska, Landsteiner, Hecker, Amako, Friedemann u. a.) und zwar zuerst durch die Arbeiten von Brand und Hecker, sowie Sachs wurden viele unklare Punkte in bezug auf das Komplement rasch aufgeklärt.

Wenn also meine entgiftende Substanz wirklich eine Art Komplement wäre, so müßte sie auch diese allgemeine Eigenschaft des Komplements zeigen. Das Ergebnis der Spaltung der Komplemententwicklung mittels der verschiedenen Methoden kann von nicht immer präzisierbaren Umständen beeinflußt werden und daher variieren. Besonders scheint dies bei dem Dialyseverfahren der Fall zu sein. Hier gelingt einerseits die Trennung nicht mit der wünschenswerten Regelmäßigkeit, und es kann sogar vorkommen, wie Neufeld und Händel beschreiben, daß nach Entfernung des Niederschlags überhaupt keine wesentliche Abnahme der Komplementwirkung in der Flüssigkeit resultiert. Andererseits kann unter Umständen während der 24-stündigen Dialyse bereits eine Inaktivierung der Komplemente eingetreten sein, wie es Tsurusaki bei Normalhämolysinen (Hundeserum und Ziegen serum) fand. Deshalb habe ich vom Dialysierverfahren gänzlich abgesehen und nur die beiden übrigen Methoden benutzt.

1) Salzsäurefällung von Sachs und Altmann.

Danach werden 1,0 ccm Serum mit 8,2 ccm $\frac{1}{300}$ n-Salzsäurelösung (in Aq. dest.) 1 Stunde bei Zimmertemperatur digeriert und sodann zentrifugiert. Der Niederschlag wird mit Aq. dest. mehrmals gewaschen. Der Abguß wird durch Zusatz von 0,8 ccm einer $\frac{1}{80}$ n-Natronlauge (Lösung) neutralisiert und im Faust-Heimschen Apparate verdampft.

2) Kohlensäurefällung nach Liefmann.

Man verdünnt 1,0 ccm Serum mit 4 ccm destillierten Wassers, leitet etwa 30—40 Minuten einen Kohlensäurestrom vom Kippschen Apparate durch, bis eine intensive Niederschlagbildung entstanden ist, und zentrifugiert. Der Niederschlag wird mit destilliertem Wasser gewaschen und aufbewahrt. Der Abguß (entsprechend 5-fach verdünntem Serum) wird ebenfalls im Faust-Heimschen Apparat getrocknet.

Wie alle Autoren (Ferrata, Brand, Skwirsky, Bessemans, Marks, Omorokow, Friedemann, Mutermilch, Husler u. a.) einstimmig anerkennen, ist die Albuminfraction thermolabil. Aus diesem Grunde muß man beim Verdampfen derselben im Faust-Heimschen Apparate hohe Temperatur vermeiden. Ich überschritt nie eine Temperatur von 40° C. Die Globulin- und auch Albuminfraction wurden im ursprünglichen Volum (1,0 ccm) Ringerscher Lösung gelöst und auf ihre entgiftende Funktion gegenüber Organextrakt geprüft. Vor der Spaltung in die beiden Fraktionen wurde immer die entgiftende Fähigkeit des Serums bestimmt.

Tabelle XLV.
Salzsäurefällung.

Extrakt	Serum	Globulin	Albumin	Glob. + Alb.	Dosis	Resultat
No. 1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 2 Std. } Kontrolle
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 1 „ }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	.	.	0,5	o. B.
dgl.	„	.	.	.	0,5	o. B.
„	.	1 ccm	.	.	0,3	† 30 Min.
„	.	„	.	.	0,25	† 1 Std.
„	.	.	1 ccm	.	0,3	† 40 Min.
„	.	.	„	.	0,25	† 1 Std.
„	.	.	.	1 ccm	0,25	† 5 „
„	.	.	.	„	0,25	† 3 „
No. 2.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 1 Std. } Kontrolle
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 30 Min. }
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	.	.	0,5	o. B.
dgl.	„	.	.	.	0,5	o. B.
„	.	1 ccm	.	.	0,3	† 30 Min.
„	.	„	.	.	0,25	† 1,5 Std.
„	.	.	1 ccm	.	0,3	† 10 Min.
„	.	.	„	.	0,25	† 1 Std.
„	.	.	.	1 ccm	0,25	† 3 „
„	.	.	.	„	0,25	† 5 „

4*

Tabelle XLVI.

Kohlensäurefällung.

Extrakt	Serum	Globulin	Albumin	Glob. + Alb.	Dosis	Resultat
No. 1.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 2 Std. Kontrolle
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 30 Min.
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	.	.	0,5	o. B.
dgl.	"	.	.	.	0,45	o. B.
"	.	1 ccm	.	.	0,25	† 30 Min.
"	.	"	.	.	0,25	† 20 "
"	.	.	1 ccm	.	0,25	† 1 Std.
"	.	.	"	.	0,25	† 40 Min.
"	.	.	.	1 ccm	0,25	† 6 Std.
"	.	.	.	"	0,25	† 7 "
No. 2.						
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 2 Min. Kontrolle
$\frac{1}{4}$	.	.	.	.	0,25	† 3 "
$\frac{1}{2}$ 1 ccm	1 ccm	.	.	.	0,5	o. B.
dgl.	"	.	.	.	0,5	o. B.
"	.	1 ccm	.	.	0,3	† 5 Min.
"	.	"	.	.	0,25	† 2 Std.
"	.	.	1 ccm	.	0,3	† 10 Min.
"	.	.	"	.	0,25	† 1 Std.
"	.	.	.	1 ccm	0,25	† 3 "
"	.	.	.	"	0,25	† 5 "

Die aus obigen Versuchsreihen zu ziehenden Schlüsse lassen sich dahin zusammenfassen, daß einzelne Fraktionen des Serums allein keine entgiftende Funktion auf Organextrakte ausüben, und wenn auch das Gemisch der gespaltenen zwei Fraktionen im Vergleich zu dem nativen Serum bedeutend an entgiftender Kraft verloren hat, so kann es doch bis zu einem gewissen Grade seine entgiftende Fähigkeit reproduzieren. Die Ursache des teilweisen Verlorengehens der entgiftenden Fähigkeit läßt sich darin sehen, daß es bei der Behandlung mit Salzsäure oder Kohlensäure und bei der Verdampfung im Faustschen Apparat in gewissem Sinne trotz sorgfältigster Handhabung geschädigt wird. Dies beweist auch die Tatsache, daß die Wiederherstellung der entgiftenden Fähigkeit bei Salzsäurefällung weit unvollkommener als bei Kohlensäurefällung ist. Wie aus obigem ersichtlich ist, ist die entgiftende Substanz des Serums auch in der Konstitution dem Komplement ganz ähnlich.

XXXII. Entgiftende Fähigkeit der Leber.

Neben den verschiedenen Funktionen der Leber kennen wir auch entgiftende Funktionen derselben.

Eine Reihe von Intoxikationen, nämlich die Alkalosis oder Fleisch-intoxikation, die glykoprive Intoxikation und die Azidosis wissen wir auf eine unrichtige Tätigkeit der Leber zurückzuführen. Daß auch körperfremde und protoplasmaschädigende Substanzen von dem Protoplasma der Leberzellen verankert werden können oder aber auch teilweise mit dem Sekret der Leber, der Galle in unschädlicherer Form wieder ausgeschieden werden, ist eine schon von allen Forschern anerkannte Tatsache. Das gilt z. B. für die Schwermetalle, wie Eisen, Kupfer, Quecksilber, Arsen, die alle zum Teil in der Leber aufgespeichert werden können, ferner für Alkaloide und Gifte, wie Nikotin, Strychnin, Hyoszin, Morphin, Chinin. Daher erklärt sich auch z. B. der Eisenreichtum der Leber bei Prozessen, die mit ausgedehntem Hämoglobinzerfall im Körper einhergehen. Auch die Tatsache, daß Gifte viel heftiger wirken, wenn sie in die Körpervenen injiziert werden als von der Pfortader aus, steht damit im ursächlichen Zusammenhang. Im Gegenteil spielt die Leber nach den Untersuchungen von Friedberger und Seelig für die Bildung des hämolytischen Froschgiftes eine wesentliche Rolle. Beim Organgifte haben Roger und Josué entdeckt, daß die letale Dose des Organextraktes oder selbst eine etwas darüber hinausgehende Quantität desselben, wenn in die Pfortader injiziert, nicht den Tod verursachen kann, d. h. daß die Leber entgiftende Fähigkeit auf Organextrakte besitzt. Kato hat diese Versuche nachgeprüft, kam aber zu ganz entgegengesetztem Resultate.

Ich stellte abermals dieselben Versuche an. Die Kaninchen gingen bei Injektion der letalen Dose des Organextraktes zugrunde, gleichgültig, ob die Injektion in die Pfortader oder in die Ohrvenen vorgenommen worden war. Wenngleich also die Leber für Organextrakte keine neutralisierende Fähigkeit zu haben scheint, so möchte ich doch annehmen, daß bei genügend langer Berührung des Extraktes mit den lebenden Leberzellen die entgiftende Funktion derselben zutage treten kann. Zu diesem Zwecke habe ich mich der Durchspülungsmethode der überlebenden Leber bedient. Ich habe den Kaninchen die Leber ganz nach dem von F. Müller im Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden genau angegebenen Verfahren herausgeschnitten. Als Durchspülungsapparate habe ich das von Yamakawa konstruierte System und die von Mizuki geistreich ersonnene Pumpe benutzt.

Betreffs Einzelheiten dieser Apparate sei auf die „Mitteilungen der Medizinischen Gesellschaft zu Tokyo“, Bd. 32, No. 14, 1918, verwiesen.

Tabelle XLVII.

Extrakt vor der Durchspülung		Extrakt nach der Durchspülung	
Dosis	Resultat	Dosis	Resultat
No. 1. Das 4-fach verdünnte Kaninchenlungenextrakt wurde 2 Stunden lang durch die eigene Leber geleitet.			
0,3	† 30 Sek.	0,3	† 1 Min.
0,25	† 1 Min.	0,25	† 3 „
0,2	† 5 Std.	0,2	† 10 Std.
No. 2. Das 4-fach verdünnte Extrakt wurde 1 Stunde lang durch die eigene Leber geleitet.			
0,5	† 3 Std.	0,5	† 2 Std.
0,35	† 5 „	0,35	† 4 „
0,25	† 6 „	0,25	† 4 „
No. 3. Das 4-fach verdünnte Extrakt wurde 1 Stunde lang durchgespült.			
0,5	† 30 Sek.	0,5	† 1 Min.
0,35	† 1 Min.	0,35	† 2 „
0,25	† 1 „	0,25	† 3 „

N-Gehalt des Extraktes	
vor der Durchspülung	nach der Durchspülung
0,1409 g/dl	0,1615 g/dl

Wenngleich das Extrakt nach der Durchspülung sich deutlich klärt, so nimmt trotzdem sein N-Gehalt merklich zu.

Aus dieser Versuchsreihe kann man sicher schließen: die Leber besitzt keine entgiftende Funktion gegenüber Organextrakten und, wie die relative Ungiftigkeit der Leber schon zeigt, kommt der Leber für die Bildung des Organextraktes keine Rolle zu.

XXXIII. Vielheit der Komplemente.

Aus den bisher erwähnten Experimenten ist es klar, daß die entgiftende Substanz des Serums höchstwahrscheinlich eine Art Komplement ist und mit dem hämolytischen Komplement Hand in Hand geht. Aber die beiden Substanzen sind tatsächlich verschieden voneinander und nicht scheinbar differente, aber in Wirklichkeit einheitliche Substanzen. Es kann zwar ab und zu vorkommen, daß eine und dieselbe Substanz, von ihren zwei verschiedenen Wirkungsweisen betrachtet, den Eindruck zweier verschiedener Stoffe macht. Daß aber dies in meinem

Fall nicht zutrifft, tun die bisher gewonnenen Tatsachen einstimmig dar.

Die Frage, ob die verschiedenartigen Komplementwirkungen, welche ein und dasselbe Serum ausüben kann, durch einheitliches Substrat oder durch eine Vielheit von reagierenden Bestandteilen ausgeübt werden, ist viel diskutiert. Während noch die französische Schule und einige andere Autoren, besonders Bordet, Gruber, Wilde, Gay und Ayer im Anschluß an Buchner auf unitaristischen Ansichten in bezug auf das Komplement hartnäckig verharren, wurden verschiedenartige Beweisführungen von der Pluralität des hämolytischen Komplements von der deutschen Schule wie Ehrlich und Morgenroth, Neisser und Döring, Lüdke, Schattenfroh, Marshall und Morgenroth, Ehrlich und Sachs, Wendelstadt und Sachs etc. durch geistreich ersonnene Experimente in eleganter Weise geliefert. Die Anschauung von der Einheitlichkeit des Alexins ist prinzipiell auch von Metschnikoff aufgegeben worden, indem er zwischen hämolytischen und bakteriziden Komplementen unterscheidet. Levaditi und Rémy stehen auch auf analogem Standpunkte. Ebenso ist es Wechsberg, Wassermann, Rémy, Pirenne, Buxton, Vedder, Neufeld und Händel, Nissen, Bail, M. Neisser, Ottolenghi und Mori etc. geglückt, durch thermische Einflüsse, Filtration, spezifische Absorption, chemische Einwirkungen u. a. das bakterizide Komplement vom hämolytischen zu differenzieren.

Die Diskussion hat noch nicht zu einer endgültigen Entscheidung geführt. Nach alledem wird man heute mit der Vielheit der Komplemente stets rechnen und sie als einen wichtigen Faktor bei der Beurteilung von Versuchsbefunden betrachten müssen. Wie bereits oben wiederholt betont wurde, zeigt die entgiftende Substanz zwar einerseits zweifellos ihre Komplementnatur, aber andererseits mit gleicher Sicherheit die völlige Verschiedenheit von dem hämolytischen Komplement. Meine Resultate haben in dieser Beziehung auch für die Vielheit der Komplemente einen Beweis erbracht.

XXXIV. Wesen der Entgiftung.

An dieser Stelle dürfte es angebracht sein, des Wesens der entgiftenden Substanz Erwähnung zu tun.

Wenn artfremdes Eiweiß, sei es ungeformt, sei es geformt, in den Körper gelangt, so erfolgen, wie wir wissen, Umlagerungen, die wohl dem Bestreben, den Fremdkörper auszuschalten, ihre Entstehung verdanken. Die so entstehenden Körper sind spezifisch, d. h. sie richten sich nur gegen die Eiweißart, durch die sie hervorgerufen sind. Es bildet sich also gegen den Fremdstoff ein Gegenstoff, „Antikörper“. Man sah ihn bisher

vor allem als Antieiwweißkörper an, von der Voraussetzung ausgehend, daß es das Eiweiß ist, das den Antikörper erzeugt. Neuere Versuche zeigten aber, daß das Eiweiß als Antikörperbildner keine Einzelstellung einnimmt. Much und Kleinschmidt konnten zeigen, daß bei Leprakranken Antikörper gegen Neutralfett erzeugt werden können. Und es folgte nun eine große Reihe von Arbeiten, die diese Möglichkeit bestätigen. Auch von Kohlehydraten wurde ähnliches von Weinland entdeckt und nachher von Abderhalden und Kumagai etc. bestätigt.

Bei Organextrakten aber haben schon Dold und Ogata gezeigt, daß es nicht gelingt, aus ihnen durch Behandlung mit Aether das giftige Prinzip zu extrahieren. Auch haben, wie schon gezeigt, die konstant oder gelegentlich im Blute auftretenden Zuckerarten, Glukose, Maltose, Saccharose, Laktose, Stärke etc. keinen Zusammenhang mit dem Organextrakte. Schließlich handelt es sich, wie bereits manche Autoren gesagt haben, beim Organextrakte nur um Eiweiß und seine Abbauprodukte.

Nun hat sich neuerdings herausgestellt, daß Zellen des eigenen Körpers, wenn sie in den Kreislauf gelangen (das Erscheinen der Chorionzotten in der Schwangerschaft wurde von Schmorl, Veit und Scholten sowie Weichardt und R. Freund sichergestellt), gleichfalls die Bildung von Antikörpern hervorrufen können.

Ebenso kann dies nach Wolff-Eisner, Pfeiffer u. a. durch Hoden-substanz, Leber, Niere, Gehirn, Linsen und anderes derselben Tierart geschehen, während Friedberger und Goretti die gegenteilige Meinung vertreten.

Die Lunge derselben Tierart bedeutet natürlich nichts Artfremdes, aber sie bedeutet doch etwas Fremdes im Blutkreislaufe, also etwas Blutfremdes und kann, ins Blut gelangend, den Zustand stören. Es kann sich hierbei ebenso wohl um die körpereigenen Zellen als auch um Stoffe des körpereigenen Stoffwechsels abnormer oder selbst normaler Natur handeln. Die Abbauprodukte haben im allgemeinen noch eine Eigenart und lassen damit die Blutfremdheit erkennen. Es ist völlig gleichgültig, ob in die Blutbahn etwa Stoffe von Polypeptidnatur gelangen, die von körperfremdem Eiweiß stammen oder von körpereigenem: sie sind stets Fremdkörper, die Reize ausüben, und müssen Antikörper hervorrufen.

Es ist wohl nicht verfehlt, anzunehmen, daß, wie schon Dold angedeutet hat, die Bildung und Ausscheidung der Lungenextrakte in vivo in gewisser Menge in der Art einer inneren Sekretion erfolgen kann. Demzufolge müssen natürlich Antikörper dagegen erzeugt werden. Sie können ganz verschiedenartig sein, wie Präzipitin, Agglutinin etc. Aber in meinem Entgiftungsfalle kommen nur folgende zwei in Be-

tracht: einerseits Ambozeptor mit Komplement (Immunkörper) und andererseits Abderhaldensche Abwehrfermente. Nach der Abderhaldenschen Ansicht erzeugt blutfremdes Eiweiß nicht nur Immunkörper (Ambozeptor und Komplement), sondern vor allem Fermente, die den Fremdstoff tiefgreifend abzubauen vermögen. Aber andererseits besteht die gegenteilige Meinung, daß es vielleicht gar keine Fermente, sondern nur Wirkungen oder Nebenwirkungen des Immunkörpers sind (Much). Abderhalden behauptet zwar, daß das Blutserum unter normalen Verhältnissen keine verdauende Kraft für zusammengesetzte Verbindungen besitzt. Er erkennt aber auch an, daß das durch 60 Minuten langes Erwärmen auf 57°C inaktivierte Serum durch Zusatz normalen Tierserums reaktiviert wird und vermutet, daß ein Aktivator im normalen Serum enthalten sei. Diese Tatsache spricht meiner Meinung nach eher für Immunkörper als für Fermente und kann dadurch ganz leicht, ohne einen etwas gezwungenen Aktivator anzunehmen, erklärt werden. Kurz gesagt, ist es noch nicht entschieden, ob es sich hierbei tatsächlich um eine Immunkörperwirkung handelt. Obwohl ich aus allerwahrscheinlichsten Begründungen, wie schon vielfach untersucht, nur die Beziehungen zwischen der entgiftenden Substanz und dem Komplemente des Serums studiert und mich überzeugt habe, daß das Komplement auch einen Teil der entgiftenden Substanz darstellt, so halte ich es doch hier für angebracht, sich zu vergewissern, daß die Immunkörper, nicht aber Abwehrfermente, in der Tat das wirksame Prinzip bei der Entgiftung sind.

Wie schon konstatiert, wird die entgiftende Fähigkeit des Serums durch halbstündiges Erwärmen auf 56°C inaktiviert. Auch die Abwehrfermente gehen nach Abderhalden durch 30 Minuten (besser durch 60 Minuten) langes Erwärmen auf $56\text{--}58^{\circ}\text{C}$ verloren. Daher kann man nicht nur aus thermischen Verhältnissen sicher schließen, ob Immunkörper oder Abwehrfermente in meinem Falle die Hauptrolle spielen. Um dies zu entscheiden, müssen folgende Punkte berücksichtigt werden:

1) Wenn das Tier untödtliche Menge von Organgiften intravenös bekommt und diese ohne Hindernis überstanden

hat, so verträgt das Tier während der nächsten 24 Stunden mehr als die letale Dose derselben oder anderer Organgifte. Dieser Zustand wurde schon von manchen Forschern anerkannt und Tachyphylaxie (Champy und Gley), Skeptophylaxie (Lambert und Bouin), Tachysynethe (Roger) etc. genannt. Ich habe auch, wie aus nachstehendem ersichtlich ist, diese merkwürdige Tatsache wahrgenommen:

Tabelle XLVIII.

Extrakt	Dosis ccm	Resultat
Vorversuch:		
$\frac{1}{4}$ (Lunge)	0,25	† 2 Min.
dgl.	0,15	schwerst, erholt
$\frac{1}{4}$ (Niere)	0,4	† 1 Min.
dgl.	0,25	etwas, erholt
$\frac{1}{4}$ (Gehirn)	0,25	† 10 Sek.
dgl.	0,15	schwer, erholt
$\frac{1}{4}$ (Leber)	0,5	† 3 Min.
dgl.	0,25	o. B.
$\frac{1}{4}$ (Muskel)	0,5	† 30 Sek.
dgl.	0,25	o. B.
Hauptversuch:		
1) $\frac{1}{4}$ (Lunge)	0,1	etwas, erholt
dgl.	nach 1 Stunde 0,5	o. B.
2) $\frac{1}{4}$ (Lunge)	0,15	schwer, erholt
dgl.	nach 2 Stunden 0,5	etwas, erholt
3) $\frac{1}{4}$ (Gehirn)	0,1	etwas, erholt
$\frac{1}{4}$ (Lunge)	nach 1 Stunde 0,5	o. B.
4) $\frac{1}{4}$ (Niere)	0,25	o. B.
$\frac{1}{4}$ (Lunge)	nach 2 Stunden 0,5	o. B.
5) $\frac{1}{4}$ (Leber)	0,25	o. B.
$\frac{1}{4}$ (Lunge)	nach 3 Stunden 0,35	o. B.
6) $\frac{1}{4}$ (Lunge)	0,15	schwerst, erholt
dgl.	nach über 24 Stunden 0,25	† 3 Min.
7) $\frac{1}{4}$ (Lunge)	0,1	o. B.
dgl.	nach ca. 30 Stunden 0,3	† 40 Sek.
8) $\frac{1}{4}$ (Muskel)	0,25	o. B.
$\frac{1}{4}$ (Lunge)	nach über 24 Stunden 0,25	† 1 Min.
9) $\frac{1}{4}$ (Leber)	0,3	etwas, erholt
$\frac{1}{4}$ (Lunge)	nach über 24 Stunden 0,25	† 4 Min.

Daß der Komplementgehalt bei Tachyphylaxie, wie bei Anaphylaxie, deutlich abgenommen hat, ist auch eine von vielen Seiten anerkannte Tatsache. Wenn man diese Punkte in Betracht zieht, so kann man die Tachyphylaxie, ganz ähnlich wie die Anaphylaxie, durch die Immunkörpertheorie ganz leicht erklären. Wenn aber die wirksame Substanz im Serum ein Abwehrferment wäre, so müßte der tachyphylaktische Zustand erst 24 Stunden nach der Extraktinjektion auftreten und ca. 3 Wochen lang erhalten bleiben, weil die Abwehrfermente, wie Abderhalden bemerkt hat, intravenös injiziert, erst 24 Stunden danach voll zur Geltung kommen und zuweilen bis zu 3 Wochen nach der Injektion noch deutlich festgestellt werden. Aber es ist hier nicht der Fall, sondern eher ganz umgekehrt.

2) Als Abwehrfermente im Serum können nur Esterasen, Karbohydrasen, Proteasen und Peptasen auftreten. Aber, wie schon erwähnt, ist es bereits von Dold und Ogata erwiesen, daß ätherlösliche Substanzen im Serum in keiner Beziehung zum Organgifte stehen. Auch habe ich verschiedene Kohlehydrate ganz ungiftig gefunden. Daher können nur die letzten zwei, Proteasen und Peptasen, als Abwehrfermente in diesem Falle in Betracht kommen. Wenn dies wirklich der Fall ist, so stößt man sogleich auf die Schwierigkeiten, die sich in ihrem Verhältnis zur Temperatur äußern. Während die Abderhaldenschen Abwehrfermente durch einstündiges Erwärmen auf 57°C verloren gehen, wird das Trypsin erst durch 75°C bis 80°C , die Leukoprotease bei Temperaturen über 75°C langsam (die beiden sind Proteasen), und die Peptasen bei 75°C vernichtet. Also auch von diesem Punkte aus ist es klar, daß die Abwehrfermente in meinem Falle nicht in Betracht kommen können.

3) Eine wiederholt diskutierte Frage in der Immunlehre ist der Chemismus (Vorgang oder Prozeß), welcher bei der Immunkörperreaktion sich abspielt. Jedenfalls aber darf man die Funktion der Immunkörper, insbesondere Hämolsine, wohl nicht als einen Akt proteolytischer Verdauung im engeren Sinne auffassen, wie das von Buchner und Oppenheimer angenommen wurde, denn es tritt Hämolyse ein, ohne daß die Stromata schwinden, und der Nachweis von Verdauungs-

produkten im hämolysierten Blut ist Nolf nicht gelungen. Auch Ohta gibt an, daß eine nachweisbare Proteolyse parallel mit der spezifischen Hämolyse nicht zur Beobachtung gelangt. Aber ganz anders bei den Abwehrfermenten. Wenn die Fermente mit den betreffenden Eiweißarten zusammengebracht werden, so beginnt sofort die Proteolyse, und nach einem gewissen Zeitraume muß sich eine gewisse Menge von Eiweißabbauprodukten vorfinden. Wenn daher die Entgiftung des Organextraktes durch Serum wirklich durch die Abwehrfermente desselben bewirkt würde, so müßte das Extraktserumgemisch nach einstündigem Digerieren im Brutofen viele Eiweißabbauprodukte—Reststickstoff enthalten.

Ich habe nach Straußscher Methylalkoholmethode Reststickstoff direkt nach der Herstellung des Gemisches und nach einstündiger Digerierung im Brutofen gemessen und fand folgende Zahlenwerte:

Tabelle XLIX.

Sofort nach der Mischung		Nach 1 Std. bei 37°
I. Reststickstoff	1) 0,006071 g/dl	1) 0,005604 g/dl
	2) 0,007005 g/dl	2) 0,005604 g/dl
II. dgl.	1) 0,007135 g/dl	1) 0,006983 g/dl
	2) 0,007621 g/dl	2) 0,007251 g/dl

Also kann man keine nachweisbare Zunahme des Reststickstoffs nach einstündiger Digerierung feststellen. Es ist schon von Bostock nachgewiesen, daß die Autolyse auch nicht sofort, wenn man das Organ herausnimmt und antiseptisch sich selbst überläßt, beginnt. Es muß nach dem Tode der Zelle immer erst eine gewisse Zeit (einige Stunden) vergehen, ehe die Autolyse anfängt, und dann verläuft sie auch erst recht langsam und erreicht ihr Maximum in zirka 48 Stunden. Meine Resultate stimmen mit dieser Angabe vollkommen überein.

Wie aus obigem ersichtlich, spielt die Proteolyse bei der Entgiftung des Organextraktes durch Serum keine Rolle und der ganze Vorgang muß auf die Immunkörperreaktion zurückgeführt werden.

Bei Betrachtung der Tatsache, daß die in vivo innersekretorisch ausgeschiedenen Organextrakte durch die damit

im ursächlichen Zusammenhange stehenden Ambozeptor und Komplemente neutralisiert werden können, kann man nicht umhin, sich zu verwundern, wie fein und großartig die Natur alles teleologisch angeordnet hat.

XXXV. Zusammenfassung.

Die Ergebnisse der bisher angestellten Versuche lassen sich kurz dahin zusammenfassen:

1) Unter den verschiedenen Organen liefert die Lunge das giftigste Extrakt.

2) Die Giftigkeit des Lungenextraktes wird durch Erhitzung auf 100°C erst nach 2 Stunden vernichtet, dagegen bei 38°C erst nach 10 Stunden.

3) Das Extrakt ist nur ein paar Tage haltbar, selbst wenn es im Eisschrank aufbewahrt wird. Toluol schützt das Extrakt merklich vor Verlorengeden der Giftigkeit.

4) Das Extrakt wird durch Filtration durch Berkefeldfilter oder durch Schütteln mit Kaolin oder Tierkohle nur wenig, aber gar nicht durch Eiereiweißlösung, seiner Giftigkeit beraubt.

5) Die Giftigkeit des Organextraktes wird durch Zusatz normalen frischen Serums völlig neutralisiert. Aber das durch Erwärmen auf 56°C inaktivierte Serum verliert sogleich die entgiftende Fähigkeit. Auch ist diese Eigenschaft an Stärke individuell verschieden.

6) Zur Entgiftung des Extraktes durch frisches Serum ist gewisse Zeit nötig. Das Extrakt-Serumgemisch ist gleich nach der Herstellung recht giftig, aber wird nach einstündigem Digeriren im Brutofen ungiftig.

7) Zur Entgiftung des Extraktes braucht es auch gewisse Wärme. Die Entgiftung durch frisches Serum wird bei 0°C nie bewerkstelligt.

8) Das Extrakt wird durch das eigene Serum am besten entgiftet.

9) Die entgiftende Fähigkeit der artfremden Sera steht weit hinter der der art eigenen.

10) Die Entgiftung durch eigenes Serum kann nicht durch Adsorption erklärt werden.

11) Das Extrakt kann ganz gleich wie Organzellen hämolytisches Komplement aufnehmen.

12) Die entgiftende Substanz kann durch Aceton, Alkohol und Aether nicht extrahiert werden.

13) Das entgiftende Prinzip ist nicht dialysabel.

14) Die Kohlehydrate haben keinen Zusammenhang mit der entgiftenden Fähigkeit des Serums.

15) Die Leukocyten vermögen weder in vitro noch in vivo das Extrakt zu entgiften.

16) Zwischen dem hämolytischen Komplement und der entgiftenden Substanz des Serums besteht keine direkte Beziehung.

17) Die entgiftende Substanz ist wie das hämolytische Komplement ein labiler Stoff.

18) Die entgiftende Fähigkeit des Serums wird durch folgende Verfahren abgeschwächt:

in vitro

a) Filtration durch Berkefeldfilter,

b) Schütteln mit Kaolin,

c) " " Kasein,

d) " " Cholesterin,

e) " " Tierkohle,

f) " " Aethyläther.

g) Bestrahlung mit ultravioletten Strahlen;

in vivo

a) Glykogen,

b) Wittepepton,

c) Hunger,

d) Phosphor.

Bei obigen Verfahren geht das hämolytische Komplement meistens mit der entgiftenden Fähigkeit des Serums parallel, aber beim Hunger wird das erstere bei weitem deutlicher als die letztere beeinflusst.

19) Die entgiftende Kraft wird durch folgende Prozeduren gesteigert:

a) Bouilloninjektion,

b) Schilddrüsenfütterung,

c) Pilocarpininjektion.

20) Die entgiftende Substanz des Serums kann durch Salzsäure- und Kohlensäurefällung in Globulin- und Albuminfraction geteilt werden.

21) Die Leber hat keine Fähigkeit, das Extrakt zu entgiften.

22) Das hämolytische Komplement und die entgiftende Substanz gehen meistens parallel, aber stellen nicht dieselbe Substanz dar. Somit wurde ein Beweis für die Vielheit der Komplemente durch meine Versuche geliefert.

23) Bei der Entgiftung des Organextraktes spielen die Immunkörper, aber nicht die Abderhaldenschen Abwehrfermente eine Rolle.

Zum Schluß sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. T. Irisawa für seine freundliche Anregung und Leitung bei der Ausführung der Arbeit ergebensten Dank darzubringen.

XXXVI. Literatur.

- 1) S. Abelin und O. Stiner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19, No. 1, und Bd. 20, 1913, 1914.
- 2) H. Nakano und T. Kagawa, Jap. Zeitschr. f. Dermat. u. Urolog., Bd. 15, 1915, No. 6.
- 3) E. Brand, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.
- 4) H. v. Tappeiner, Berichte d. Deutschen Chem. Gesellschaft, Jahrg. 36, 1903, H. 12.
- 5) Ph. Green, Transact. of the Royal Soc. of London, Vol. 188, 1897.
- 6) C. Oppenheimer, Die Fermente u. ihre Wirkungen, 4. Aufl., 1913.
- 7) T. Kagawa, Festschr. gewidmet Prof. K. Dohi zu seinem 25-jähr. Doktorjubil., 1917.
- 8) H. Roger und O. Josué, C. r. soc. biol., 1, 1906.
- 9) Th. Brugsch und A. Schittenhelm, Techn. d. spez. klin. Untersuchungsmethoden, 2. Teil, 1914.
- 10) D. Ottolenghi und H. Mori, Centralbl. f. Bakt. etc., 1. Abt. Orig. Bd. 38.
- 11) E. Abderhalden, Abwehrfermente, 4. Aufl., 1914.
- 12) H. Strauß, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 106, 1912.
- 13) H. Dold, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.
- 14) — Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 36.
- 15) — und S. Ogate, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913.
- 16) A. Diastaso, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913.
- 17) G. Izar, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913.
- 18) S. Ichikawa, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913.

- 19) E. Fischer, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 18, 1913.
- 20) H. Dold und H. Kodama, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 18, 1913.
- 21) O. Stenström, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 8, 1911.
- 22) M. Massone, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1911, No. 52.
- 23) G. Izar und C. Patané, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 14, 1912.
- 24) — und A. Fagioli, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 13, 1912.
- 25) E. Wolf, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 18, 1913.
- 26) S. Mancini, *Bioch. Zeitschr.*, Bd. 26, 1910.
- 27) Aronson, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1912, No. 6.
- 28) P. Müller, *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Orig., Bd. 29, 1901.
- 29) G. Lefmann, *Hofmeisters Beiträge*, Bd. 9, 1906.
- 30) D. Ottolenghi und N. Mori, *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Orig., Bd. 38, 1905.
- 31) R. Kraus und L. Levaditi, *Handbuch d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung*, 2. Aufl., 1909.
- 32) E. Neisser und H. Doering, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1901, No. 22.
- 33) K. Landsteiner und R. Stanković, *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Bd. 41, 1906.
- 34) — — *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Bd. 42, 1906.
- 35) — und R. Ulirz, *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Bd. 40, 1906.
- 36) A. Wassermann und J. Citron, *Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther.*, Bd. 4, 1907.
- 37) Wendelstadt, *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Orig., Bd. 34, 1903.
- 38) H. Lüdke, *Münch. med. Wochenschr.*, 1905, No. 43.
- 39) G. v. Bergmann und E. Savini, *Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther.*, Bd. 4, 1907.
- 40) E. Hoke, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 34, 1913.
- 41) Brieger und Uhlenhuth, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, No. 10.
- 42) H. Dold, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1912, No. 49.
- 43) L. Popielski, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 18, 1913.
- 44) W. Kolle und H. Hetsch, *Die experimentelle Bakteriologie usw.*, 4. Aufl., 1916.
- 45) W. Kolle und A. Wassermann, *Handbuch d. pathog. Mikroorganismen*, 2. Aufl., 1913.
- 46) M. Gruber und K. Futaki, *Münch. med. Wochenschr.*, 1906, No. 6.
- 47) — — *Münch. med. Wochenschr.*, 1907, No. 6.
- 48) — — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1907, No. 39.
- 49) L. Müller, *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Orig., Bd. 50, 1909.
- 50) — *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abt., Orig., Bd. 57, 1911.
- 51) P. Kyes und H. Sachs, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1903, No. 2, 3, 4.
- 52) J. Kiss, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 3, 1909.
- 53) — *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 4, 1910.
- 54) H. Much, *Die Immunitätswissenschaft*, 2. Aufl. 1914.
- 55) A. Ferrata, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 13.
- 56) H. Sachs und Altmann, *Handbuch von Kolle-Wassermann*, Bd. 2, 2. Aufl., 1913.

- 57) H. Liefmann, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 37
- 58) — und M. Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 7 u. 8, 1910—1911.
- 59) — und M. Stutzer, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 42.
- 60) K. Marks, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911.
- 61) Braun, Bioch. Zeitschr., Bd. 31, 1911.
- 62) K. Landsteiner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911.
- 63) H. Sachs und G. Bolkowska, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910.
- 64) Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. zu Frankfurt a. M., 1907.
- 65) U. Friedemann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, 1910.
- 66) T. Amako, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1911.
- 67) M. Goto, Kyoto Igaku Zassi, Bd. 13, 1916, H. 1.
- 68) Y. Yoshimura, Nippon Biseibutsugakukai Zassi, Bd. 2, 1915.
- 69) K. Ichikawa, Tohoku Igaku Zassi, Bd. 2, 1917.
- 70) — ebenda, Bd. 3, 1918.
- 71) — ebenda, Bd. 4, 1919.
- 72) K. Obata, Tokyo Igakukai Zassi, Bd. 30, 1916.
- 73) E. Arima, ebenda.
- 74) M. Goto, Kyoto Igaku Zassi, Bd. 13, 1916, H. 3.
- 75) H. Dold und S. Ogata, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912.
- 76) L. H. Gutmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19, 1913.
- 77) F. Schenk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 22, 1914.
- 78) H. Ritz, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912.
- 79) W. H. Thompson, Journ. of Physiol., Vol. 24, 1899.
- 80) S. Ogata, Nippon Byorigakukai Kaishi, Bd. 1915.
- 81) M. Inoki, Nippon Biseibutsugakukai Zassi, Bd. 5, 1917.
- 82) M. Inoki, ebenda, Bd. 6, 1918.
- 83) J. Veit, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 22 und 23.
- 84) R. Scholten und J. Veit, Zeitschr. f. Geb. u. Gyn., Bd. 49, 1903.
- 85) E. Friedberger und S. Ichikawa, Verhandlungen der 7. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 57, 1913.
- 86) — Verhandlungen der Berl. mikrobiol. Gesellschaft vom 12. Dez. 1912, Berl. klin. Wochenschr., 1913, No. 2.
- 87) — und P. Salecker, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911.
- 88) — und E. Putter, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920.
- 89) — und A. Seelig, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 46, 1908.
- 90) — und G. Goretti, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914.

Nachdruck verboten.

Chemotherapeutische Versuche mit Fetten an Kulturen säurefester Bacillen.

Von

Dr. Ad. Lindenberg,
Professor für Dermatologie
São Paulo

und

Bruno Rangel Pestana,
Assistent am Bakteriolog. Institut
São Paulo, Brasilien.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. November 1920.)

Einleitung.

Die wohlbekannte spezifische Wirkung des Chaulmoograöles auf Lepra hat uns veranlaßt, die Wirkung der Fette auf säurefeste Bacillen zu prüfen.

Ohne die ganze Geschichte dieses sehr umfangreichen Gegenstandes zu wiederholen, möchten wir nur die Arbeiten von Hallopeau, Du Castel, Neumann, Rille, Dyer, Dubreuilh, Jeanselme, Brocq, Kupffer, Dönitz erwähnen und folgende vier näher erörtern:

Unna war der erste, der Chaulmoograöl als spezifisches Mittel gegen Lepra angesprochen hat. Tourtoulis-Bey hat als erster empfohlen, das Oel zu injizieren; Engel-Bey hat das Antileprol eingeführt, welches ein Abkömmling des Chaulmoograöles ist.

Heiser hat Einspritzungen von Chaulmoograöl in Verbindung mit Kampferöl und Resorcin vorgeschlagen. Unsere eigene Erfahrung mit diesen verschiedenen Präparaten gründet sich auf eine Serie von mehr als 100 klinisch sicheren Leprafällen, bei welchen das Oel in den verschiedensten Formen und Methoden zur Verwendung gekommen ist.

Das am meisten verwendete Präparat war das Antileprol, ein Aethylester der Fettsäuren des Oeles. Es wurde per os und in Form subkutaner Injektionen angewandt. Trotzdem es besser vertragen wurde als das Chaulmoograöl, ist es doch nicht jedem Patienten gleich gut bekommen. Die mit Antileprol erzielten Ergebnisse haben uns überzeugt, daß das Chaulmoograöl, dessen Derivat es ist, ein vorzügliches Mittel gegen Lepra ist.

Die Versuche von Heiser und Mercado auf den Philippinischen Inseln mit ihrer Resorcinöl-Mischung sind auch sehr überzeugend, trotzdem diese nicht so rein ist wie das Antileprol, sondern ein Gemenge dieses Oeles mit Resorcin und Kampfer. Wir haben Gelegenheit gehabt, es in einer Reihe von Fällen mit sehr gutem Resultat zu prüfen. Seine Vorzüge in Vergleich zu Antileprol sind, daß es als Einspritzung besser vertragen wird und weniger kostspielig ist.

Wie kann man es erklären, daß die Lepra noch immer für eine unheilbare Krankheit gilt, wenn die spezifische Wirkung des Chaulmoograöles so klar zu erkennen ist?

Erstens, ist die Toleranz des Patienten für das Oel sehr verschieden. Per os können nur sehr wenige dieses Mittel in genügend großer Dosis nehmen. Selbst wenn eine gewisse Toleranz vorhanden ist, wird sie nach einiger Zeit aufhören, und der Kranke weigert sich, das Mittel länger zu nehmen. — Die subkutanen und intramuskulären Injektionen sind schmerzhaft und verursachen oft Infiltrationen, die so langsam resorbiert werden, daß der Patient gezwungen ist, die Behandlung für einige Zeit aufzugeben.

Zweitens ist es wegen der Fälschungen mit anderen Oelen in Indien schwer, ein reines Präparat zu erhalten. In der medizinischen Literatur findet man keine chemische Charakterisierung des reinen Chaulmoograöles. Dieselbe Ungewißheit herrscht hinsichtlich seines Ursprunges. Einige Autoren behaupten, daß es von *Gynocardia odorata*, andere, daß es von *Taraktogenus Kurzii* oder *Hydrocarpus* stammt, Die Produkte, die verkauft werden, sind entweder fest oder flüssig. — Mit so wenig positiven Kenntnissen ist es schwer, eine wohldefinierte Substanz zu erhalten, mit der man systematische Untersuchungen anstellen kann, aus welchen auch Schlüsse gezogen werden dürfen.

Dieser Umstand erklärt auch die Abweichung in den Befunden der meisten Autoren auf diesem Gebiet.

Ueberzeugt von der Spezifität des Chaulmoograöles gegen Lepra, haben wir eine Reihe von Versuchen unternommen, um diese Schwierigkeiten zu beheben, die der dauernden und erfolgreichen Anwendung dieser Substanz im Wege standen.

Unsere Arbeit, obzwar sie lange gedauert hat, hat uns nicht zu endgültigen Schlüssen geführt. Einige sehr interessante Tatsachen, welche wir im Laufe unserer Versuche festgestellt haben, hatten uns gezwungen, von unserem ursprünglichen Programm abzuweichen. Neue Tatsachen, trotzdem sie im anfänglichen Plan unserer Arbeit nicht aufgenommen worden sind, sind interessant genug, um jetzt veröffentlicht zu werden, in der Hoffnung, daß ihre Kenntnis zu anderen nützlichen Untersuchungen führen wird. Später werden wir selbständigere Ergebnisse veröffentlichen, wenn wir unsere Versuche, die wir zu unterbrechen genötigt waren, zu Ende führen können.

Versuche mit einer Emulsion von Chaulmoograöl.

Wir haben diese Emulsion angewandt in dem Gedanken, ein Präparat für intravenöse Injektion zu erhalten und so die Toleranz des Kranken und die Wirksamkeit der Arznei zu vergrößern. Zu einer 2 $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung von Chaulmoograölseife wurde ein gleiches Volum des ursprünglichen Chaulmoograöles zugefügt, und zwar in kleinen Portionen, während das Gemenge kräftig geschüttelt wurde. Dann wurde das Ganze mit gleichem Volum destillierten Wassers verdünnt, durch Berkefeld-Filter filtriert und im Autoklaven sterilisiert. Wir haben auf diese Weise eine stabile Emulsion erhalten, welche sich unter dem Mikroskop als vollkommen einheitlich zeigte, bestehend aus Teilchen, die kleiner waren als die gewöhnlichen Eiterkokken. 2 ccm von dieser Emulsion wurden schließlich intravenös bei einem Kaninchen angewandt und sehr gut vertragen. Die folgenden Fälle sind mit dieser Emulsion behandelt worden.

Fall I. A. U., Italiener, 30 Jahre alt. Lepra maculosa anaesthetica. Rote, hervorstehende Flecken auf dem Gesicht und im Ellbogen mit Unempfindlichkeit. Ähnliche Flecken auf Knöcheln und Beinen mit Anästhesie nur in der Mitte der Hautveränderung. Die erste Injektion am 18. Juli. Von da an tägliche Injektionen mit zunehmender Dosis bis zum 31. Oktober; da hat der Kranke 11 ccm bekommen. Die ganze injizierte Menge bis zu jenem Tage war 470 ccm. Die Flecken begannen schnell zu schwinden. Der Patient beklagte sich über Schwäche. Die Behandlung wurde mit der-

selben Menge bis zum 13. Dezember fortgesetzt. Die Flecken sind fast verschwunden. Von diesem Tage an wurde die Dosis verringert bis zu 4 ccm, und jeden zweiten Tag injiziert. Bis zum 13. April wurden 830 ccm injiziert. Seit diesem Zeitpunkt sind alle Flecken verschwunden, ebenso die Unempfindlichkeit der Arme und Beine. Auf dem Gesichte hielt die Unempfindlichkeit in der Mitte der Flecken an.

Fall II. U. D., Italiener, 35 Jahre alt, *Lepra tuberosa*. Schwerer Fall. Nephritis. Die erste Injektion von 2 ccm am 13. Dezember. Kopfschmerzen nach der Injektion. Die zweite Injektion von 1 ccm hat er gut vertragen. Die folgende Dosis von 2 ccm hat Kopf- und Rückenschmerzen verursacht. Der Patient war bis zum 29. Mai behandelt worden. Die ganze Menge der injizierten Substanz betrug 45 ccm.

Keine Aenderung an den Flecken.

Fall III. A. G., 16 Jahre alt, *Lepra tuberosa*. Kleine Lepraknoten auf dem Gesicht und ein mandelgroßer am Kinn. Am 2. Dezember erste Injektion von 2 ccm, welche Menge bis zum 6. Januar bis auf 7 ccm vergrößert wurde. Zu dieser Zeit hatten wir bemerkt, daß die Venen, die bei diesem Patienten sehr fein waren, anzuschwellen begannen. Wegen dieser vorübergehenden Phlebitis wurde die Behandlung öfters unterbrochen. Bis zum 29. Mai hat der Patient 210 ccm intravenös erhalten.

Der große Knoten im Gesicht ist kleiner geworden und überragt kaum noch die normale Haut. Die Wirkung der Behandlung war in diesem Fall ganz auffallend.

Fall IV. A. R., Brasilianer, 19 Jahre alt. *Lepra mixta*. *Facies leontina*. Großer Lepraknoten am Kinn und auf der Stirn, Atrophie der Interossei, Kontraktur der Finger, Klauenhände. Große pigmentierte und unempfindliche Flecke auf dem Arm. Am 18. Juli bekam er eine intravenöse Injektion von 1 ccm, und diese Dosis wurde dann täglich vergrößert bis auf 10 ccm. Der Patient hat bis zum 12. Oktober 477 ccm bekommen. Die Gesichtshaut ist weicher geworden. Die Finger sind schon etwas beweglich. Bis zum 30. November war die Dosis auf 14 ccm erhöht worden. Kopfschmerzen. Die Injektion auf 10 ccm verringert und jeden zweiten Tag gegeben. Der Patient hat bis zum 19. April 1911 ccm bekommen. Die Besserung war ganz auffallend. Der Knoten am

Kinn ist gänzlich verschwunden; auf der Stirne sind sie viel kleiner geworden, die Flecken auf dem Arm viel blasser. Der Patient kann alle seine Finger bewegen, aber noch nicht normal.

Diese wenigen Fälle, trotzdem sie nicht vollkommen sind, erlaubten uns folgende Schlüsse zu ziehen:

1) Das Oel, welches wir benutzt haben, und das wir aus London unter dem Namen Taraktogenus Kurzii bezogen haben, ist das ursprüngliche Chaulmoograöl, was auch daraus hervorgeht, daß die drei Patienten, die es in genügend großer Dosis erhalten haben, gute Besserung gezeigt haben.

2) Wir haben in der Emulsion eine neue Art der Darreichung, die besser vertragen wird und vielleicht auch wirksamer ist.

Versuche mit den Fettsäuren des Chaulmoograöles.

Nachdem wir eine Zeitlang mit der Emulsion des Oeles gearbeitet hatten, bemerkten wir, daß die Filtrate der Emulsion manchmal voneinander abwichen. Je länger wir Berkefeld-Filter benutzten um so klarer wurden unsere sonst unter gleichen Bedingungen zubereiteten Lösungen. Wir untersuchten den freien Fettgehalt des Filtrates und haben nur 4 Proz. gefunden, während die ersten Filtrate 7,7 Proz. enthielten. Es war klar, daß der größte Teil des Oeles durch das Filter absorbiert wurde und nicht in das Filtrat gelangte. Da die ersten Filtrate dieselbe therapeutische Wirkung hatten, und nur der Seifengehalt der Emulsion konstant blieb, zogen wir den Schluß, daß der Seifengehalt (Natriumsalz der Fettsäure) der wirksamste Teil der Emulsion war.

Um diese Annahme zu bestätigen, mußten wir nur unsere früheren Versuche mit Antileprol betrachten.

Dieses ist, wie erwähnt, ein Aethylester der Säure des Chaulmoograöles, und da der Aethylalkohol keine Wirkung hat, bleiben nur die Säuren als die einzig wirksamen Bestandteile des Oeles übrig.

Da die Säuren viel leichter zu behandeln sind, und die Dosierung besser zu kontrollieren ist als bei den emulgierten Fetten, haben wir unsere Versuche mit Fettsäuren fortgesetzt, indem wir sie, wie üblich, verseift und die Säure durch Salzsäure freigemacht haben.

Da wir echtes Chaulmoograöl hatten, war unser erstes Bestreben, gewisse Charakteristika festzulegen, die es ermöglichen, jederzeit seine Echtheit nachzuweisen.

Viele Forscher haben versucht, diese Frage mit chemischen Methoden zu lösen, ohne daß sie zu einem befriedigenden Schluß gekommen wären; insbesondere ist es eine Streitfrage, als was das echte Chaulmoograöl aufzufassen ist. Wir haben an eine biologische Kennzeichnung gedacht.

Zweitens wollten wir eine experimentelle Erklärung für die interessante Tatsache finden, daß es gegen Lepra eine spezifische Wirkung besitzt.

Wir haben ein wirksames therapeutisches Mittel gegen eine infektiöse Krankheit in der Hand, deren Erreger wir kennen; und daraus kann gefolgert werden, daß die Ursache der heilenden Wirkung in der chemischen Einwirkung der Fettsäure des Chaulmoograöles auf die Leprabacillen besteht.

Wir haben angenommen, daß darin die Ursachen unserer Heilerfolge mit dem Oel lagen.

Bei der Prüfung der direkten Wirkung der Fettsäuren auf den Bacillus sind wir auf große Schwierigkeiten gestoßen, denn trotz der Bemühungen von Kedrowski, Clegg, Duval, Reenstjerna u. a. ist es noch nicht gelungen, eine Kultur des Bacillus von Hansen zu erhalten.

Wir wissen aber, daß chemotherapeutische Produkte immer auf dieselben Gruppen der Mikroorganismen einwirken, so z. B. Salvarsan auf sämtliche Spirochäten, Antimon auf Trypanosomiasis und Leishmaniosis. Daher entschlossen wir uns, in Ermangelung von Leprabacillen-Reinkulturen unserer Chaulmoograöl-Fettsäuren an anderen säurefesten Bacillen zu erproben. Wir haben zu diesem Zwecke folgende bekannten pathogenen und saprophytischen säurefesten Bacillen benutzt: *Tbc. humana*, *Tbc. aviaria*, *Bacillus butyricus*, *Bacillus timothee*, *Bacillus pseudo-tbc. Fischer*, *Bacillus Duval*, *Bacillus Lombarda*, *Streptothrix Deycke*.

Verfahren.

Das Oel wurde verseift, und die gesamten Fettsäuren wurden durch Ansäuern mit Salzsäure abgetrennt: 1 g der Säure wurde mit Soda neutralisiert und die Lösung mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. So hatten wir eine Lösung, die genau

1 Proz. Säure enthielt¹⁾. Diese 1-proz. Lösung wurde im Autoklaven gründlich sterilisiert und in absteigender Menge zu Röhrchen mit 5-proz. Glycerin-Bouillon zugefügt. Dann haben wir jedes Röhrchen, das dasselbe Volum (10 ccm) enthielt, aber von verschiedenem Fettsäuregehalt war, mit gleichen Mengen einer homogenen Suspension der Bacillen geimpft.

Zu jedem Experiment haben wir drei Kontrollen gemacht, eine für das Medium, eine für die Säurelösung und eine für die Kultur.

Während in den ersten und letzten Röhrchen das Wachstum der Bacillen augenscheinlich war, hat in dem Röhrchen mit der Säurelösung kein Wachstum stattgefunden.

Wir sind uns dessen bewußt, daß man mit dieser einfachen Methode nicht den absoluten antiseptischen Wert einer Substanz mit der Sicherheit nachweisen kann, die bei hygienischen Prozessen verlangt wird. Aber dies war auch nicht unsere Absicht. Wir wollten nur die relative bakterizide Wirksamkeit des Chaulmoograöles auf verschiedene säurefeste Bacillen im Gegensatz zu nichtsäurefesten Keimen zeigen.

Koch hat es zuerst nachgewiesen, und Behring hat es bestätigt, daß Kaliumaurocyanid die Substanz ist, die das Wachstum der Tuberkelbacillen in größter Verdünnung verhindert, nämlich in einer Verdünnung von $\frac{1}{1-2000000}$. Auf diese auffallende Tatsache waren die Versuche von Bruck, Spieß und Feldt, die lokale Tuberkulose, und zu einem gewissen Grad auch die Versuche von Gensaboro Koga in Japan Tuberkulose und Lepra mit Cyanobindungen (Cyanocuprol) zu behandeln, gegründet. In unseren Untersuchungen die Methode von Koch benutzend, wiederholten wir seine klassischen Versuche mit Kaliumaurocyanid. Wir haben sie im Zusammenhang mit unseren Präparaten oft wiederholt um vergleichbare Resultate zu erhalten.

Wir konnten beweisen, daß dieses Aurocyanid in der oben erwähnten Verdünnung imstande war, nicht nur das Wachstum der Tuberkelbacillen, sondern auch anderer pathogener und saprophytischer säurefester Bacillen zu verhindern. Es ist bekannt, daß es bei diesen Versuchen sowohl auf die Verdünnung des antiseptischen Mittels, wie auch

1) Manchmal war eine 10-proz. Lösung nötig.

auf die Menge der geimpften Keime und das Alter der Kulturen ankommt. Je jünger die Kulturen und je größer die Zahl der in den Röhrchen eingeführten Bacillen sind, um so stärker muß die antiseptische Lösung sein, um das Wachstum zu verhindern. Aus diesem Grunde können die Resultate eines Experimentes nicht mit denen eines anderen unter verschiedenen Umständen gemachten verglichen werden. Aber nehmen wir den einen Versuch, wo dieselben Impfungen mit denselben Kulturen, mit denselben Keimmengen gemacht worden sind, so können wir diese einzelnen Röhrchen untereinander vergleichen.

1. Versuch.

Tbc. aviaria.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$	$1/2000000$
Fettsäuren des Taraktogenus Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+

Es ist aus vorstehender Tabelle ersichtlich, daß die Fettsäuren des Chaulmoograöles von Taraktogenus Kurzii imstande sind, das Wachstum der Bacillen von Tbc. aviaria in einer Verdünnung von $1/500000$ zu verhindern.

2. Versuch.

Tbc. aviaria.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$	$1/2000000$	$1/5000000$
Säure des Tar. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Phenol	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trikresol	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
Resorcin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kaliumaurocyanid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+

Weiter ist die antiseptische Wirkung des Taraktogenus Kurzii in dieser Tabelle mit anderen antiseptischen Mitteln, wie die Gruppe der Phenole und Kaliumaurocyanid verglichen worden. Sie übersteigt in hohem Maße die Wirkung der Phenole (25mal aktiver als Trikresol und 50mal aktiver als Phenol), aber sie ist 4mal weniger wirksam als Kaliumaurocyanid. Das Verhältnis letzterer stimmt mit der Bestimmung von Koch mit Tuberkelbacillen überein und beträgt $1/2000000$.

3. Versuch.

Fettsäuren des Taraktogenus Kurzii.

	$1/1000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Tbc. aviaria	0	0	0	0	0	0	0	+
Tbc. humana	0	0	0	0	0	0	+	+
B. butyricus	0	0	0	0	0	0	+	+
B. Duval	0	0	0	0	0	0	0	+
B. timothee	0	0	0	0	0	0	+	+
Streptothrix Deycke	0	0	0	0	0	+	+	+
Pseudotbc. Fischer	0	0	0	0	0	+	+	+
B. Lombarda	0	0	0	0	+	+	+	+

Hier sehen wir die spezifische Wirkung des Taraktogenus Kurzii auf Tbc. aviaria und andere säurefeste Bacillen. Es soll auch hier festgelegt werden, daß es auf pathogene und saprophytische Arten dieselbe Wirkung ausübt. Diese Tatsache scheint mit dem Grade der Säurefestigkeit zusammenzuhängen. Bacillus Fischer und Bacillus Lombarda sind, da sie nicht sehr säurefest sind, sehr widerstandsfähig gegen das Oel; mit anderen Worten: je mehr säurefest, desto weniger widerstandsfähig gegen das Oel.

Diese Versuche sind öfters mit demselben Resultat wiederholt worden. Manchmal, wenn die Lösung älter und die ursprüngliche Kultur jünger war, und die Impfung aus größerer Menge von Keimen bestand, haben wir eine Hemmung bei einer $1/200000$ Verdünnung bekommen, anstatt bei $1/500000$.

4. Versuch.

Fettsäuren von Taraktogenus Kurzii.

	$1/100$	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Tbc. aviaria	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Tbc. humana	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
B. butyricus	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
B. Duval	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Streptothrix Deycke	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
B. timothee	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
B. Fischer	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
B. Lombarda	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Streptothrix Eppinger	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
B. anthracis	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
B. subtilis	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. typhosus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. Friedländer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Dieser Versuch beweist nicht nur die Affinität des Taraktogenus Kurzii für die säurefesten Bacillen, sondern auch, daß diese Affinität spezifisch ist, denn es hat wenig oder gar keinen Einfluß auf nichtsäurefeste Bakterien.

Darum kann die wachstumshindernde Wirkung der Substanz nicht als eine gewöhnliche Seifenwirkung gedeutet werden. Es ist ferner bekannt, daß die antiseptische Wirkung der gewöhnlichen Seifen gering ist. Um die obigen Ergebnisse zu bestärken, haben wir folgende Versuche mit anderen Antiseptics gemacht.

5. Versuch.

	$1/100$	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200.000$	$1/500000$
Staphylococcus aureus.								
Taraktogenus Kurzii	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol	0	+	+	+	+	+	+	+
Trikresol	0	0	+	+	+	+	+	+
Resorcin	0	+	+	+	+	+	+	+
Kaliumaurocyanid	0	0	0	0	0	0	0	+
B. typhosus.								
Taraktogenus Kurzii	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol	0	+	+	+	+	+	+	+
Trikresol	0	+	+	+	+	+	+	+
Resorcin	0	+	+	+	+	+	+	+
Aurocyanid	0	0	0	0	0	0	0	+
B. Friedländer.								
Taraktogenus Kurzii	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol	0	+	+	+	+	+	+	+
Trikresol	0	0	0	+	+	+	+	+
Resorcin	0	+	+	+	+	+	+	+
Aurocyanid	0	0	0	0	0	0	0	+
B. anthracis.								
Taraktogenus Kurzii	0	+	+	+	+	+	+	+
Phenol	0	+	+	+	+	+	+	+
Trikresol	0	0	0	+	+	+	+	+
Resorcin	0	+	+	+	+	+	+	+
Aurocyanid	0	0	0	0	0	0	0	0

Versuche mit anderen zur Chaulmoogrgruppe gehörenden Oelen.

Das in den oben beschriebenen klinischen Fällen angewandte Oel war mit dem bei den Kulturversuchen gebrauchten und in den letzten Tabellen wiedergegebenen identisch.

Daraus, daß die beiden dieselben Resultate geliefert haben, haben wir geschlossen, daß wir mit dem ursprünglichen Chaulmoograöl gearbeitet haben, und daß die Kulturmethode geeignet sei, die Echtheit der Substanz praktisch festzustellen.

Um unsere Annahme zu bestätigen, haben wir dieselben Versuche mit anderen Oelen, die auch für Chaulmoograöle ausgegeben werden, wiederholt. Die Säuren wurden in derselben Weise isoliert, wie bei *Taraktogenus Kurzii*, und folgende Experimente gemacht.

6. Versuch.
Tuberculosis aviaria.

	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{10000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{50000}$	$\frac{1}{100000}$	$\frac{1}{200000}$	$\frac{1}{500000}$	$\frac{1}{1000000}$
Taraktogen. Kurzii	0	0	0	0	0	0	+	+
Hydrocarpus venenata	0	0	0	0	0	+	+	+
Hydrocarpus anthelminthica	0	0	0	0	0	+	+	+
Hydrocarpus wightiana	0	0	0	0	+	+	+	+
Gynocardia odorata	0	0	0	0	0	+	+	+
Chaulmoograöl von Merck	0	0	0	0	0	+	+	+

Dieser Versuch, welcher wiederholt mit anderen säurefesten Bacillen ähnliche Resultate gegeben hat, zeigt erstens, daß Oele von verschiedener Herkunft, aber als echte Chaulmoograöle betrachtet, eine spezifische Wirkung auf das Wachstum der säurefesten Bacillen haben und daher einen wirksameren Einfluß auf die Behandlung der Lepra haben können, zweitens, daß das Oel des *Taraktogenus Kurzii* wirksamer ist als die anderen sogenannten Chaulmoograöle und von diesen durch seine größte Aktivität auf die Kulturen säurefester Bacillen besser unterschieden werden kann als durch chemische oder physikalische Methoden.

Alle diese Oele stammen aus der Pflanzenfamilie Flacourtiaceae. Wir haben in Brasilien eine zu dieser Familie gehörende Pflanze, *Carpotroche brasiliensis*, deren Oel vom Volke gegen Hautkrankheiten benutzt wird, und eine andere Pflanze, *Bixa orellana*, eine Bixacee, die den Flacourtiaceen nahe verwandt ist. Wir haben diese Oele in folgenden Versuchen geprüft:

7. Versuch. Tuberculosis aviaria.

	$1/1000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$	$1/2000000$
Tarakt. Kurzii	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Chaulmoogra									
Merck	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Antileprol	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Carpotroche	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Bixa orellana	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Kaliumauro- cyanid	0	0	0	0	0	0	0	0	+

Die Oele von Carpotroche und Bixa orellana sind ebenso wirksam wie die gewöhnlichen Chaulmoograölpräparate, aber weniger als Taraktogenus Kurzii.

Aus diesem Grunde haben wir beschlossen, andere tierische und pflanzliche Oele zu untersuchen. Gegen Tuberkulose ist seit langer Zeit empirisch Lebertran benutzt worden. Bisher hat keine Theorie seine Wirkung befriedigend erklären können.

8. Versuch. B. tuberculosis aviariae.

	$1/1000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Taraktogen. Kurzii	0	0	0	0	0	0	+	+
Lebertran	0	0	0	0	0	+	+	+
Fischöl des Handels	0	0	0	0	0	+	+	+

Versuche mit anderen Oelen.

Nachdem wir die wachstumshindernde Fähigkeit des Lebertrans und der Oele der Flacourtiaceae auf säurefeste Bacillen geprüft haben, haben wir die Untersuchung anderer Fette bekannten Ursprunges unternommen.

Um für ihre Echtheit bürgen zu können, haben wir alle Oele aus Samen gewonnen.

9. Versuch. B. butyricus.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Taraktogen. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Speck	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kakao	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kokusnuß	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Erbsennuß	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Baumwollöl	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Leinöl	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Sesam	0	0	0	+	+	+	+	+	+
Mohnblumöl	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Johanesia princeps	0	0	0	0	0	0	0	+	+

Der Versuch zeigt, daß das Verhalten der verschiedenen Fette gegen säurefeste Bacillen große Abweichungen aufweist. Speck, Kakao-, Kokusnuß- und Erdnußöl sind wirkungslos, Sesamöl sehr wenig aktiv. Baumwollsamenöl, Leinöl, Mohnblumenöl, das Oel von *Johanesia princeps* hatten eine ausgesprochene Wirkung; das Oel von *Taraktogenus Kurzii* ist das wirksamste von allen.

Folgende Versuche waren mit mehreren Oelen gemacht worden. Sie wurden auf mehrere säurefeste Bacillen geprüft, wie in allen früheren Versuchen.

10. Versuch. *Bacillus timothee*.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$
Taraktogen. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	+
Palmenkernöl	0	+	+	+	+	+	+	+
Nußöl	0	0	0	+	+	+	+	+
Rübenöl	0	+	+	+	+	+	+	+
Hanf	0	0	0	0	0	+	+	+
Mais	0	0	0	0	0	+	+	+
Heliotrop	0	0	0	0	+	+	+	+
Crotonöl	0	0	0	0	0	0	+	+
Castor	0	0	0	0	0	0	+	+
Olivenöl	0	+	+	+	+	+	+	+
Süßes Mandelöl	0	+	+	+	+	+	+	+

In dem folgenden Versuch ist es interessant, daß das Oel der bitteren Mandel aktiver ist als das der süßen Mandel, obwohl alle Autoren beiden die gleiche chemische Zusammensetzung zuschreiben.

11. Versuch. *Bacillus Duval*.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$
Taraktogen. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	+
Walnuß (Paranut)	0	0	0	0	0	+	+	+
Japanwachs	0	+	+	+	+	+	+	+
Jatropha curcas	0	0	0	0	0	+	+	+
Kirschkerneöl	0	0	0	0	+	+	+	+
Bitteres Mandelöl	0	0	+	+	+	+	+	+
Süßes Mandelöl	0	+	+	+	+	+	+	+

12. Versuch. *Tuberculosis aviaria*.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Taraktogen. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Kaffee	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Kürbissamenöl	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Biehhyba	0	0	0	0	0	0	0	+	+

13. Versuch. *Bacillus Duval*.

	$1/1000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$	$1/2000000$
Tar. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Chinesisch.										
Zuckerrohr	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
Soyabohnen	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Quitten-										
samenöl	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
Persea gra-										
tissima	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Sucupira	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
Kalium-										
aurocyanid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+

Die Ergebnisse aller dieser Versuche zusammenfassend, sehen wir, daß viele Fette die Eigenschaft haben, das Wachstum der säurefesten Bacillen zu verhindern. Einige haben eine fast so hohe Wirkung wie Chaulmoograöl (Baumwoll-samenöl, *Johanesia princeps*, Leinöl, Bicuhyba, *Persea gra-tissima*), welche bei einer Verdünnung von $1/100000$ eine wachstumshindernde Wirkung zeigten, während *Taraktogenus Kurzii* dieselbe Wirkung bei einer Verdünnung von $1/200000$ hat.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß der therapeutische Wert des Chaulmoograöles eine nahe Beziehung mit seiner bakteriotropen Aktivität hat. Daraus folgt, daß die oben genannten Oele und andere ähnlichen Verhaltens ähnliche Heilwirkung haben müssen, natürlich verschieden in der Größe der Wirkung.

Wir werden später hierauf zurückkommen.

Chemische Zusammensetzung der Oele.

Die Ueberlegenheit des Oeles von *Taraktogenus Kurzii* tritt aus allen obenangeführten Versuchen hervor. Es war wichtig, zunächst den wirksamen Bestandteil der Fettsäuren zu erhalten. Das war aber angesichts der mangelhaften Kenntnis der Chemie der Fette außerordentlich schwierig.

Alle Versuche anderer Autoren, die verschiedenen Bestandteile der Oele zu isolieren, sind mißlungen, denn die abgeschiedenen Substanzen waren nie chemisch rein.

Unser Bestreben ging dahin, den wirksamen Teil des Oeles zu erhalten, ohne Rücksicht auf seine Reinheit, und dies konnten wir leicht durch unsere biologische Methode prüfen.

Wir haben schon erwähnt, daß der aktive Bestandteil des Oeles in den Fettsäuren enthalten und keine unverseifbare, in dem Oel gelöste Substanz ist, wie das beim Lebertran angenommen wird.

Die chemische Zusammensetzung mancher in diesen Experimenten benutzten Oele ist annähernd bekannt (Treatise on fats von Lewkowitsch und Handbuch von Abderhalden).

Da viele die gleiche Wirksamkeit haben, haben wir geschlossen, daß die Aehnlichkeit der Wirkung von derselben Menge eines und desselben Oelbestandteiles herrührt. Die Zahl der die Oele zusammensetzenden Fettsäuren ist gering.

Darum würde es einfach sein, die aktive Substanz aufzufinden, indem man die Zusammensetzung zahlreicher Oele vergleicht.

Wir können gleich die Stearin- und Palmitinsäure ausscheiden, die gesättigte Säuren sind und die Hauptbestandteile der inaktiven Fette bilden, wie Japanwachs, Speck, Kakao-butter, Kokusnußöl, Palmenöl.

Zweitens können wir die ungesättigte Oleïnsäure ausscheiden, welche in allen Fettsubstanzen vorkommt und der Hauptbestandteil des Oliven- und Mandelöles ist, welche inaktiv sind. Aber wenn wir dieselbe Ueberlegung auf andere Fettsäuren anwenden, so kommen wir zu falschen Schlüssen, z. B. Linol- und Linolensäure.

Leinöl, das hauptsächlich aus diesen Säuren besteht, ist ebenso aktiv wie Baumwollsamensöl, welches nur wenig davon enthält.

Die gewöhnliche Methode, die verschiedenen Bestandteile der Fette voneinander zu trennen, beruht auf ihrem verschiedenen Schmelzpunkt. Das war auch die Methode, die wir befolgt haben.

Die ganze Menge der Fettsäuren des Taraktogenus Kurzii wurden in absolutem Alkohol (50 g + 500 ccm Alkohol) gelöst, durch fraktionierte Ausfällung erhielten wir Fällungen von verschiedenem Schmelzpunkt.

I. Serie bei 59° schmelzend	IV. Serie bei 35° schmelzend
II. „ „ 52° „	V. „ „ 31° „
III. „ „ 46° „	VI. „ „ 25° „

14. Versuch. Bacillus butyricus.

	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{10000}$	$\frac{1}{50000}$	$\frac{1}{100000}$	$\frac{1}{200000}$	$\frac{1}{500000}$	$\frac{1}{1000000}$	$\frac{1}{2000000}$	$\frac{1}{5000000}$	$\frac{1}{10000000}$
Gesamtsäuren des T. K.	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Schmelzp. 59°	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
„ 52°	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
„ 46°	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
„ 35°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
„ 31°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
„ 27°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+

Diese Tabelle zeigt, daß die niedrigschmelzenden (35° bis 27°) Säuren die aktivsten sind, und daher therapeutisch auch die wertvollsten. Etwas aktiv sind auch die bei 52° schmelzenden; aber das kann man sich durch die Absorption der höher schmelzenden an niedriger schmelzenden Säuren erklären.

Gleiche Ergebnisse bekamen wir bei ähnlichen Versuchen mit Baumwollsaamenöl. wie nachstehende Tabelle zeigt.

15. Versuch. *Bac. buthyricus*.

	$1/1000$	$1/2000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$
Leinöl									
Schmp. 96°	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 72°	0	0	0	+	+	+	+	+	+
„ 23°	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Gesamtsäuren	0	0	0	0	0	0	0	+	+

Ungesättigte Säuren.

Alle Fette enthalten gesättigte und ungesättigte Säuren. Aus den obenerwähnten Versuchen haben wir gefolgert, daß die ganze Wirkung der Oele auf die säurefesten Bacillen von ungesättigten Säuren herrührt, da, wie bekannt, diese einen niedrigeren Schmelzpunkt besitzen als die gesättigten.

Gegen diese Annahme sprach aber die Tatsache, daß viele inaktive Oele große Mengen von ungesättigten Säuren enthalten, z. B. Oliven- und Mandelöl, welche fast ausschließlich aus ungesättigten Säuren bestehen.

Wenn die spezifische Aktivität der Oele ausschließlich von den ungesättigten Säuren herrühren würde, so wäre die Jodzahl, welche eine sichere Methode zur Bestimmung des Gehaltes an ungesättigten Säuren ist, eine wertvolle Hilfe für die Bestimmung der Stärke der Aktivität. Aber wenn wir die Jodzahl der untersuchten Oele mit ihrer das Wachstum der Bakterien hindernden Wirkung vergleichen, so sehen wir, daß die beiden voneinander abweichen. So ist die Jodzahl des Chaulmoograöles 103, niedriger als die des Leinöles, welche 173 beträgt; aber die Aktivität des letzteren ist niedriger als die des ersteren.

Noch auffälliger ist die Abweichung bei Bicuhybaöl, dessen Jodzahl sehr niedrig ist [bei Lewkowitsch 18,5¹⁾] und dessen Aktivität $\frac{1}{1-200000}$ gleich der des Leinöles ist (Jodzahl 173).

Wir glauben, daß die Wirksamkeit der ungesättigten Säuren den Doppelbindungen im Molekül proportional ist, so daß die Gegenwart einer Säure von der Reihe $C_n H_{n-8} O_2$ in einem Oel, z. B. in der Clupodononicsäure, sogar in kleineren Quantitäten die Wirksamkeit eines Oeles mit niedriger Jodzahl sehr erhöhen kann, z. B. die des Bicuhybaöles, obgleich sie nicht ausreicht, um die Jodzahl nachweisbar zu erhöhen.

Eine andere Hypothese ist die, daß die Aktivität von einer unbekannten, ungesättigten Säure herrührt oder von einem Homologen einer bekannten ungesättigten Säure.

Um unsere Annahme zu bestätigen, daß die Aktivität von einer ungesättigten Säure herrührt, machten wir folgende Versuche:

Zuerst haben wir die Trennung der gesättigten von der ungesättigten Säure mittels Bleisalzes nach der klassischen Methode versucht.

Die Trennung aber, wie alle auf die Oelanalysen angewandten Methoden, ist ungenau, wie es auch die folgende Tabelle zeigt.

16. Versuch. Bac. timothee.

	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{10000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{50000}$	$\frac{1}{100000}$	$\frac{1}{200000}$	$\frac{1}{500000}$	$\frac{1}{1000000}$
T. K. ungesätt.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
T. K. gesätt.	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
Bicuhyba un-										
gesättigt	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Bicuhyba ges.	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+

Der Unterschied zwischen gesättigter und ungesättigter Säure ist aus diesen Versuchen ersichtlich.

Wir versuchten dann die Sättigung der ungesättigten Säuren mittels Jods. Zu einer Reihe von Röhrchen vom selben Volum (10 ccm) haben wir gleiche Gewichtsmengen aller Säuren des Taraktogenus Kurzii gegeben und eine zunehmende Tropfenzahl von Jodtinktur.

Das Jod war schnell absorbiert, und das Medium hat seine ursprüngliche Farbe zurückbekommen.

1) Wir haben 32 gefunden.

Das letzte Röhrchen, zu welchem wir 10 Tropfen gegeben haben, hatte seine gelbe Farbe für eine Zeit behalten. Das bezeugte, daß die Sättigung fast vollständig war.

17. Versuch. Bac. Duval.

	$1/1000$	$1/2000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Tarakt. Kurzii	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
+ 1 Tr. Jodtinktur	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
+ 3 Tr. Jodtinktur	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
+ 6 Tr. Jodtinktur	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
+ 10 Tr. Jodtinktur	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+

18. Versuch. Bac. Duval.

	$1/1000$	$1/2000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$
Baumwollöl ohne Jod	0	0	0	0	0	0	0	+	+
+ 1 Tr. Jod	0	0	0	0	0	0	+	+	+
+ 2 " "	0	0	0	0	0	+	+	+	+
+ 4 " "	0	0	0	0	+	+	+	+	+
+ 6 " "	0	0	+	+	+	+	+	+	+
+ 10 " "	0	0	+	+	+	+	+	+	+

Dieser Versuch zeigt, daß das Zuführen von Jod, trotzdem es ein antiseptisches Mittel ist, das Wachstum der Keime befördern kann, offenbar, weil es die ungesättigten Säuren des Oeles gesättigt hat.

Einfluß des Alterns auf die Lösung.

Während unserer Versuche haben wir bemerkt, daß die Wirksamkeit der Lösungen mit ihrem Altern vermindert wird, wie es folgende Tabelle zeigt:

19. Versuch. Bac. butyricus.

	$1/1000$	$1/2000$	$1/5000$	$1/10000$	$1/20000$	$1/50000$	$1/100000$	$1/200000$	$1/500000$	$1/1000000$
Tar. Kurzii:										
frisch. Lösung	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
alte "	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Baumwollöl:										
frisch. Lösung	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
alte " (2 Mon.)	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
Leinöl:										
frisch. Lösung	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
alte " (2 Mon.)	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+

6*

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Aktivität mit dem Altern der Lösung abnimmt, wahrscheinlich durch den trocknenden Einfluß der Luft. Das ist ein anderer Beweis für unsere Annahme, daß das Oel seine Aktivität den ungesättigten Säuren verdankt, denn die Eigenschaft des Trocknens ist mit dem Ungesättigtsein der Oele doch verbunden.

Versuche mit Tuberkulose.

Wir haben unsere Oele an klinischen Fällen menschlicher und tierischer Tuberkulose geprüft. Wir haben Chaulmoograöl, Lebertran und Leinöl angewandt.

Einige Meerschweinchen, die vorher mit Tuberkulose geimpft wurden, haben subkutane Einspritzungen von reinem Chaulmoograöl bekommen; andere wieder die Natriumsalze der Fettsäuren ihrer Oele. Dieselben Versuche wurden mit Lebertran und Baumwollöl wiederholt. Diese Injektionen haben eine lokale Entzündung hervorgerufen, die Nekrose und Bildung von Abszessen zur Folge hatten. Die Tiere sind mit den Kontrolltieren zugleich gestorben. Mit anderen Worten: es war keine Heilwirkung vorhanden. Doch wir müssen uns vergegenwärtigen, daß durch die Entzündung sozusagen eine Abschließung des injizierten Stoffes stattgefunden hat, und daher konnte das Mittel nicht resorbiert werden. Eine Reihe von Kaninchen wurden mit Rindertuberkulose injiziert und intravenös mit 0,01 g Fettsäure des Chaulmoograöles einmal wöchentlich behandelt.

Zwei überlebende Tiere wurden 6 Monate nach dem Tode des letzten Kontrolltieres getötet. Sie zeigten keine tuberkulöse Abweichung. — Diese Ergebnisse sind eher enttäuschend. Es müssen Versuche mit besseren technischen Methoden gemacht werden. Die Resultate in den wenigen klinischen Tuberkulosefällen, bei welchen wir dieselben Substanzen angewandt haben, waren auch nicht ermutigend.

Wir haben 5 Fälle mit intravenösen Einspritzungen von 0,01 g Fettsäure des Chaulmoograöles in wöchentlichen Intervallen behandelt. Fünf wurden mit subkutaner Injektion der Fettsäure des Lebertrans 3mal die Woche behandelt. 24 Fälle wurden mit subkutaner Injektion von Baumwollsaamen in wechselnden Mengen von 1—10 ccm 2mal wöchentlich behandelt.

Alle waren vorgeschrittene aktive Tuberkulosefälle aus dem Krankenhaus, mit Fieber und zahlreichen Bacillen im Sputum.

In allen mit Lebertran und Chaulmoograöl behandelten Fällen war eine Reaktion vorhanden. Das Fieber ist gestiegen, das Husten ist stärker geworden, das Befinden der Patienten hat sich verschlimmert, und sie haben sich geweigert, die Behandlung fortzusetzen. Der Effekt war der einer Tuberkulin-Injektion ähnlich. Eine spezifische Wirkung kann demnach nicht geleugnet werden. Das Resultat in den Fällen mit Baumwollöl war ähnlich. Das Befinden der meisten Patienten hat sich verschlimmert. Nur zwei sind fieberfrei geworden und haben an Gewicht zugenommen.

Wenn wir versuchen wollen, aus diesen wenigen Versuchen einen Schluß zu ziehen, so müssen wir zugeben, daß die chemotherapeutische Behandlung der vorgeschrittenen Lungentuberkulose mit diesen Oelen nicht angezeigt ist.

In den obenerwähnten Fällen, in welchen viele Tuberkelbacillen in den Geweben sind, muß man daran denken, daß Keime, welche durch diese Substanzen getötet worden sind, an Ort und Stelle zerfallen und ihre Toxine frei werden. Dieselbe Gefahr ist bei Lepra nicht vorhanden, denn die Leprabacillen sind nicht so giftig wie die Tuberkelbacillen.

Es ist bei gewissen Leprafällen, bei welchen sehr viele Bacillen zugegen sind (tuberöse Form), dennoch möglich, daß sich das allgemeine Befinden des Patienten verschlechtert, wenn die Knoten zu schnell verschwinden. Das ist der schnellen Absorption der Giftstoffe zuzuschreiben.

Wir wissen auch, daß die Wirksamkeit des Lebertrans nur bei Fällen mit weniger Tuberkelbacillen deutlich ist, z. B. bei Skrofulose (Drüsentuberkulose), Knochentuberkulose und im Anfangsstadium der Lungentuberkulose.

Wir glauben, daß in den Fällen, wo wenige Bacillen zugegen sind, und wo die Gefahr des Freiwerdens größerer Toxinmengen aus den Bacillen kleiner ist, die Oelbehandlung sehr angezeigt ist.

Zusammenfassung.

Chaulmoograöl und viele andere Oele haben durch ihren Gehalt an ungesättigten Säuren eine große spezifische wach-

tumhindernde Wirkung auf Kulturen von Tuberkelbacillen und anderen Säurefesten.

Darin liegt vielleicht eine Erklärung für die bekannte Wirkung des Chaulmoograöles bei Lepra und des Lebertrans bei einigen Fällen von Tuberkulose.

Diese Oele wirken als direkte chemotherapeutische Reagentien und nicht als Stimulatoren auf Phagocytose, wofür die Wirkung des Chaulmoograöles in der Leprabehandlung angesehen wurde, oder als ein Tonikum, wie die gute Wirkung des Lebertrans bei Tuberkulose im allgemeinen gedeutet worden ist.

Diese Annahme ist durch die gleichartige Wirkung des Chaulmoograöles aus Taraktogenus Kurzii auf Kulturen und auf klinische Fälle bestärkt worden, da es nicht nur das wirksamste Oel bei der Leprabehandlung ist, sondern auch auf Kulturen von säurefesten Bacillen die stärkste Wirkung ausübt.

Die Frage, welcher Teil des Oeles der wirksamste ist, haben wir in der Weise beantwortet, daß die Wirksamkeit ohne Zweifel in den ungesättigten Säuren liegt. Nicht alle ungesättigten Säuren haben dieselbe Wirkung. Wir haben in unserem Körper normalerweise auch eine Menge von ungesättigten Fettsäuren, wie es die Verdauung der Fette zeigt. Sogar in dem Wachsgehalt der Lepra- und Tuberkelbacillen sind ungesättigte Fettsäuren vorhanden.

Darum wäre es ein Fehler, die therapeutische Aktivität der Fettsäuren allein ungesättigten Fettsäuren zuzuschreiben.

Es ist möglich, daß die Aktivität der Zahl der Doppelbindungen im Säuremolekül proportional ist, oder wir müssen in den aktiven Oelen entweder eine neue, unbekannte ungesättigte Säure annehmen, oder eine homologe ungesättigte Säure, die uns noch nicht bekannt ist.

Schluß.

Wir schlagen die Behandlung mit Oelen von einer ausgesprochenen spezifischen wachstumshindernden Wirkung auf Kulturen von säurefesten Bacillen vor:

- 1) bei allen Fällen der Lepra;
- 2) bei allen Fällen von Tuberkulose, bei welchen die Behandlung mit Lebertran angezeigt ist.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Barmbeck
(Dir.: Prof. Dr. med. Rumpel). Bakteriolog.-serolog. Abteilung
(Leiter: Privatdozent Dr. med. Fr. Graetz).]

**Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Reaktivität
des Syphilitikerserums.**

**(Zugleich ein Beitrag zur Frage der technischen Ausgestaltung der
Wassermannschen Reaktion.)**

Von **Eberhard Schwab**, approb. Arzt aus Stuttgart.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Oktober 1920.)

Seitdem A. von Wassermann und seine Mitarbeiter der Wissenschaft jene überaus wichtige und wertvolle biologische Reaktion geschenkt haben, welche heute in den weitesten Kreisen auch der Laienwelt als die Wassermannsche Reaktion bekannt ist, haben viele Dutzende gewissenhafter Forscher am technischen Ausbau dieser Reaktion gearbeitet. Besonders in der ersten Zeit nach der Entdeckung der Reaktion ist fast kein Jahr vergangen, welches nicht mehr oder weniger brauchbare und wertvolle Modifikationen der Wassermannschen Originalmethode gebracht hätte. Viel ernste Arbeit wurde darauf verwendet, um alle Möglichkeiten diagnostischer Irrtümer, alle überhaupt denkbaren Fehlerquellen der technischen Ausführung, sowie die Unzulänglichkeit und die Grenzen der Leistungen und der Modulationsfähigkeit der Reaktion festzulegen und ihrer praktischen Ausgestaltung dienstbar zu machen.

Aber trotz dieser unermüdlichen wertvollen Arbeit am Ausbau und an der Nutzbarmachung der Wassermannschen Reaktion für die Praxis sind wir leider auch heute noch nicht so weit, daß man von einer allgemein anerkannten, einheitlichen, allein und allerwärts gültigen Methodik mit allgemeinen gleichen Reagenzien, stets gleichbleibender Versuchsanordnung, gleichmäßigem Ablauf des Versuchs und vor allem mit einheitlichen und absolut zuverlässigen Resultaten sprechen

könnte. Und doch wird und muß es stets unser Bestreben sein — und das ist in praktischer Beziehung von der allergrößten Bedeutung — eine Methodik auszuwählen, welche die Prozentzahl der einwandfreien positiven Reaktionen bei bestehender Lues so groß als irgendwie möglich macht (Jakobsthal) und unbeschadet der absoluten Spezifität die weitestgehende Erfassung und Darstellung des serologisch irgend nachweisbaren Virus gewährleistet.

Wir sind uns wohlbewußt, daß die serologische Luesforschung von diesem Endziel ihrer Bestrebungen auch heute noch recht weit entfernt ist, und daß es noch mancher ernsten Kleinarbeit bedarf, ehe wir dem erstrebenswerten Ziele einer denkbar höchsten Vervollkommnung der Methodik der Wassermannschen Luesreaktion näher kommen werden. Auch die vorliegende Arbeit kann ja nichts weiter sein als ein kleiner Baustein bei der weiteren Ausgestaltung der Methodik der Wassermannschen Reaktion. Und wenn es uns gelingt, in dieser Arbeit der Praxis einen weiteren Prüfstein auf die Exaktheit und Zuverlässigkeit ihrer Ergebnisse bei der Wassermannschen Reaktion an die Hand zu geben, so erscheint ihre Aufgabe erfüllt.

Es heißt sicher nicht das Verdienst von Wassermanns und seiner Mitarbeiter herabsetzen, wenn wir im folgenden die Frage aufwerfen, ob die Wassermannsche Reaktion in ihrer ursprünglichen Form (sogenannte Originalmethode) allen Anforderungen entspricht, die wir heute, angesichts der erschreckenden Verbreitung der Lues, an die Feinheit und Zuverlässigkeit sowie an die absolute Spezifität einer modernen serologischen Reaktion stellen müssen. Und es heißt auch nicht das Verdienst der genannten Forscher schmälern, wenn wir diese Frage mit nein beantworten.

Es würde natürlich zu weit führen, im Rahmen dieser Arbeit ausführlich auf die technische Anordnung und auf Einzelheiten der Original Wassermannschen Reaktion mit ihren Vorzügen und Nachteilen einzugehen. Wir setzen die Kenntnis des Prinzips der Wassermannschen Reaktion im allgemeinen als bekannt voraus und möchten zum besseren Verständnis unserer späteren Ausführungen nur insoweit auf die Vorschriften zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion

zurückgreifen, als diese sich auf die Temperatur beziehen, bei welcher der Komplementbindungsversuch zum Ablauf gebracht werden soll. Es handelt sich hier speziell um die Versuchstemperatur in der sogenannten ersten Phase bzw. Komplementbindungsphase der Wassermannschen Reaktion.

Nach den Vorschriften der Originalmethode, wie sie heute noch in zahlreichen Instituten ausgeführt wird und wie sie durch Verfügung der Medizinalabteilung des ehemaligen preußischen Kriegsministeriums während des Krieges allen militärischen Untersuchungsstellen in der Heimat, in der Etappe und beim Feldheer zur Pflicht gemacht wurde, vollzieht sich die erste Phase der Wassermannschen Reaktion bekanntlich in der Weise, daß eine bestimmte Gebrauchsdosis eines alkoholischen Organextraktes (Luesleber) mit einer bestimmten Menge des bei 56° inaktivierten Patientenserums vermischt und nach Zusatz einer bestimmten Komplementmenge ca. 1–2 Stunden, bei 37° C bebrütet wird. Dabei wird es dem Ermessen des einzelnen Untersuchers überlassen, ob er die Bebrütung des Gemisches bei 37° C im Brutschrank oder im Wasserbad vor sich gehen lassen will, offenbar in der Annahme, daß Brutschrank und Wasserbad hinsichtlich ihrer Temperaturwirkung als wesensgleich zu gelten hätten. Nach Ablauf der sogenannten Bindungsphase erfolgt dann der Zusatz des restlichen Teils des hämolytischen Systems, d. h. der Hammelblutkörperchen und des Ambozeptors, wobei dann je nach Lage des Falles der Eintritt oder das Ausbleiben der Hämolyse als Zeichen der erfolgten bzw. nicht erfolgten Komplementbindung zu gelten hat.

Im Jahre 1909 hat E. Jakobsthal, unabhängig von der wenig früher erschienenen Arbeit der italienischen Forscher Satti und Donati, in vergleichenden Versuchen nachgewiesen, daß es für das Gelingen des Versuches durchaus nicht absolutes Erfordernis ist, das Gemisch von Extrakt, Patientenserum und Komplement während der ersten Phase der Reaktion in die Brutschranktemperatur von 37° zu bringen, daß vielmehr der Ausfall der Wassermannschen Reaktion in manchen Fällen weit schärfer und eindeutiger sein kann, wenn die wesentliche Phase des Versuches, die sogenannte Komplementbindungsphase, nicht im Brutschrank, sondern im Eisschrank abläuft, d. h. statt bei Körpertemperatur bei einer solchen von etwa + 4° C vor sich geht.

Auf Grund eingehender vergleichender Studien über das Wesen der Wassermannschen Reaktion war Jakobsthal nämlich zu der Ueberzeugung gelangt, daß es sich bei der Bindung des Komplementes um eine, allerdings nur ultramikroskopisch sichtbare Adsorption des Komplementes an ein Präzipitat, gebildet aus Organextrakt und Patientenserum, handle, also um einen Vorgang, welcher, den Gesetzen der Adsorption gehorchend, bei abnehmender Temperatur eine Verstärkung versprach. Tatsächlich gelang es ihm ja auch, bei seinen praktischen Versuchen zunächst an einem Material von 200 Fällen den Nachweis zu erbringen, daß die so-

genannte Kältemethode der Original Wassermannschen Reaktion um ein Plus von 2 Proz. positiver Reaktionen überlegen sei.

Jakobsthal hat damit auch für den speziellen Fall der Wassermannschen Reaktion die Haltlosigkeit der bis dahin ziemlich allgemeingültigen Anschauung, wonach die Körpertemperatur von 37° unbedingt in allen Fällen die optimalen Bedingungen für das Zustandekommen einer biologischen Reaktion darstellen sollte, praktisch bewiesen.

Zwei Jahre später war es H. Guggenheimer, ein Schüler von H. Sachs, der an einem Material von 623 Seris, das ihm am Frankfurter Institut für experimentelle Therapie zur Verfügung stand, durch parallel geschaltete Versuchsreihen — einerseits im Brutschrank bei 37° , andererseits bei Verwendung einer Temperatur von 0° bis $+4^{\circ}\text{C}$ (Eisschrank) — den Nachweis führen konnte, daß, entsprechend den Angaben Jakobsthal's, auch ein Teil der von ihm untersuchten Sera nur bei der Kälte positiv reagierte, ein nicht unwesentlicher Teil der Versuche (8 von 257) aber eine positive Reaktion nur bei Brutschranktemperatur aufwies, während der Ablauf des Parallelversuches in der Kälte bei sonst völlig gleichartiger Versuchsanordnung zu einem negativen Ergebnis führte.

Aus derartigen Beobachtungen erhellt die bemerkenswerte Tatsache, daß es, unter der Voraussetzung völlig gleicher Versuchsbedingungen bezüglich der Menge und der Zusammensetzung von Extrakt und Komplement, Sera gibt, welche die Eigenart besitzen, daß für ihre Reaktivität im Komplementbindungsversuch das Temperaturoptimum teils ausschließlich bei einer der menschlichen Körperwärme entsprechenden Temperatur liegt, während für andere Sera dieses Optimum ausschließlich bei bedeutend niedrigeren Temperaturen, speziell bei Temperaturen zwischen 0° und $+4^{\circ}\text{C}$ zu suchen ist.

Es besteht hier eine unverkennbare Differenz zwischen den Befunden Jakobsthal's und den durch Guggenheimer erzielten Ergebnissen, für welche Guggenheimer in seiner einschlägigen Arbeit eine befriedigende Antwort nicht zu geben vermag. Guggenheimer glaubte zunächst eine Erklärung in der von ihm für seine Extrakte im Kältebindungsversuch festgestellten größeren Selbsthemmung gefunden zu haben, konnte damit aber gerade die von ihm festgestellte Tatsache, daß manche Sera trotz der geringeren Autotropie der Extrakte bei der Wärme nur mit der Originalmethode ein positives Resultat ergaben, nicht in Einklang bringen. Guggenheimer läßt es deshalb unentschieden, ob eventuell eine Verschiedenheit der von beiden Untersuchern verwendeten Extrakte oder andere in der Besonderheit des einzelnen Serums begründete Faktoren für das von ihm beobachtete Phänomen verantwortlich zu machen seien.

Im Grunde genommen ist die Entscheidung dieser Frage für die praktische Beurteilung der von Guggenheimer gefundenen Tatsache des unterschiedlichen Verhaltens mancher Sera bei verschiedener Temperatur aber sonst gleichen Vorbedingungen auch nicht notwendig. Für die Praxis ist es viel wichtiger, diese Tatsache zu kennen, damit man ihr bei jedem Versuche Rechnung tragen und sich vor schweren diagnostischen Irrtümern

und den daraus entspringenden für Arzt und Patienten gleich verhängnisvollen Folgen schützen kann.

Im übrigen haben ja Altmann und Zimmern dem empfindlichen Mangel an ausschlaggebender Beweiskraft der relativ kleinen Versuchsreihen von Jakobsthal und Guggenheimer durch die Veröffentlichung ihrer eingehenden, an einem Material von 1962 Seris und Lumbalpunktaten gemachten Studien über die Brauchbarkeit der Kältemethode und ihre Vorteile abgeholfen. Im ganzen entschied bei diesen vergleichenden Versuchsreihen ein Plus von 1,6 Proz. positiver Reaktionen bei Fällen, deren Lues auch klinisch und anamnestisch sichergestellt war, für eine Ueberlegenheit des Kälteverfahrens. Die Veröffentlichung von Altmann und Zimmern ist insofern besonders wertvoll, als in ihr der Beweis einer vollkommen absoluten Spezifität der Kältemethode erbracht und ihr dadurch ein wissenschaftlich gesicherter Platz neben der Originalmethode geschaffen wurde. Aber auch den beiden letztgenannten Autoren blieb bei ihren Versuchen die Tatsache nicht verborgen, daß neben einer Mehrzahl von Seris, die allein nach der Kältemethode positiv reagieren, eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Seris besteht, bei denen ausschließlich unter strenger Berücksichtigung der Vorschriften der Originalmethode, d. h. speziell bei Anwendung der Brutschranktemperatur von 37°, ein positives Resultat zu erzielen ist. Altmann und Zimmern kommen deshalb zu dem gleichen Schluß wie Guggenheimer, daß die Kältemethode zwar wertvolle Dienste leisten, aber keineswegs als ausschließlicher und vollwertiger Ersatz für die Originalmethode in Frage kommen kann, da auch die Kältemethode für sich allein keineswegs allen nach Anamnese und Klinik ohne Zweifel luisch veränderten Seris die optimalen Bedingungen für ihre Reaktivität im Komplementbindungsversuch zu bieten vermag. Altmann und Zimmern erkennen somit die Verwendbarkeit der Kältemethode ohne weiteres an, verlangen aber ebenso wie Altmann ihre Verwendung nur neben der Originalmethode.

Daß es an sich für den Ausfall der Komplementbindung bei der Wassermannschen Reaktion nicht bedeutungslos ist und auch nicht bedeutungslos sein kann, unter welchen Temperaturbedingungen die fraglichen Versuche vor sich gehen, das haben zwei dänische Forscher, Thomsen und Boas, in ihrer 1903 erschienenen Veröffentlichung über den Einfluß der Temperatur auf die Komplementbindung in der Wassermannschen Reaktion mit Nachdruck betont und dabei mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß bei den älteren einschlägigen Versuchen eigentlich von keinem Untersucher genügend auf eine genaue Bestimmung der Temperatur zur Zeit der Bindung geachtet worden sei. Die Autoren gehen dabei von der Annahme aus, daß die eigentliche Komplementbindung wohl nie bei der von den Untersuchern angenommenen Temperatur stattgefunden habe, da die Reagenzien zur Zeit der Mischung zweifellos einen der Zimmertemperatur entsprechenden Wärmegrad gehabt hätten und sowohl bei der Originalmethode als auch bei der Kältemethode eine längere Stufenleiter von Temperaturgraden aufsteigend bzw. absteigend hätten durchlaufen

müssen, bis das eigentliche Bindungsoptimum erreicht worden wäre. Hier bei habe es sich der Kontrolle des Beobachters entzogen, bei welchem der einzelnen durchlaufenen Temperaturgrade sich die Bindung vollzog. Da es sich nun für die Praxis, speziell bei einem größeren Material, kaum als angängig erweisen dürfte, für jedes einzelne Serum erst durch größere Reihen von Vorversuchen das Temperaturoptimum zu bestimmen, schlugen Thomsen und Boas in Konsequenz ihrer mehr theoretischen Studien für die Praxis vor, durch eine Kombination von mehreren zwischen 0° und 37° gelegenen Temperaturen „möglichst allen Seris optimale Bedingungen für die Komplementbindung zu geben“. Wie weit dieser vom Standpunkt mehr theoretischer Erwägungen ausgehenden Forderung von den beiden Forschern selbst in der Praxis entsprochen wird, entzieht sich leider unserer Kenntnis. Sicher ist allerdings eins, daß weder die Forderungen Jakobsthals und Guggenheimers, noch die Anregung der beiden dänischen Forscher, dem Einfluß der Temperatur auf die Reaktivität des Syphilitikerserums größere Beachtung zu schenken, in der Praxis weitere Berücksichtigung gefunden hat. Diese Tatsache geht teils aus den Antworten auf persönliche Umfragen des Herrn Dr. Graetz, teils aus der neueren Literatur hervor, indem wir auch in den größeren Arbeiten von Kaup, Marg. Stern und Lange, die sich doch eingehend mit der technischen Ausgestaltung der Wassermannschen Reaktion befassen, kaum eine Erwähnung des so wesentlichen Einflusses der Temperatur auf die Komplementbindung bei der Wassermannschen Reaktion finden. Und doch wäre dieser für die Praxis so bedeutsame Eingriff in die Technik der Wassermannschen Reaktion um so empfehlenswerter, als die Variation der Temperatur in der Komplementbindungsphase eigentlich keine wesentliche Änderung der von Wassermann angegebenen Methodik bringt, zumal ja die sonst bis in alle Einzelheiten festgelegte Originalvorschrift dem Untersucher, dem sie die Verwendung des Wasserbades oder des Brutschrankes freistellt, hinsichtlich der Temperatur in der Bindungsphase weit mehr freie Hand läßt, als es den meisten Untersuchern je zum Bewußtsein kommt.

Von welcher einschneidenden Bedeutung die Variation der Temperatur auf den Ausfall der Wassermannschen Reaktion sein kann, das haben die auf der serologischen Abteilung des Barmbecker Krankenhauses durchgeführten vergleichenden Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der Original Wassermannschen Reaktion und der von Jakobsthal angegebenen Kältemethode mit Deutlichkeit gezeigt. Die fraglichen Untersuchungen, welche sich auf ein Material von über 30000 Fällen stützen und den Gegenstand einer vor kurzem von Herrn Dr. Graetz in der Zeitschrift für Hygiene veröffentlichten Abhandlung bilden, haben den Beweis erbracht, daß sich die sogenannte Kältemethode Jakobsthals, unter der Voraussetzung einer sachgemäßen und einwandfreien Technik, so gut wie in allen Stadien der Lues der Originalmethode überlegen zeigt, ohne daß die klinische Spezifität der Reaktion dadurch eine Beeinträchtigung erfährt. Wir müssen es uns leider aus äußeren Gründen versagen, auf

Einzelheiten der genannten Untersuchungsergebnisse hier einzugehen und möchten Interessenten auf die oben schon erwähnte, in Band 89 der Zeitschrift für Hygiene erschienene Arbeit hinweisen. Zusammenfassend soll nur hervorgehoben werden, daß auch nach den Erfahrungen von Graetz aus den oben bereits von Guggenheimer sowie von Altmann bzw. von Altmann und Zimmern genannten Gründen leider ein Ersatz der Original Wassermannschen Reaktion durch das Kältebindungsverfahren nicht möglich erscheint, daß vielmehr im Interesse einer restlosen serologischen Erfassung aller positiv reagierenden Syphilitikersera eine Parallelschaltung der beiden Methoden geboten erscheint.

Graetz hat in der genannten Arbeit bereits darauf hingewiesen, daß die Parallelschaltung der beiden Methoden selbstverständlich eine ganz erhebliche Mehrarbeit für Untersucher und Laboratoriumshilfspersonal bedeutet und daß die Genauigkeit der Ergebnisse bei großen Versuchsreihen nur durch eine Verlängerung des Versuchstags erkauft werden kann, ein Nachteil, der in der Praxis eventuell auf unüberwindliche Schwierigkeiten stoßen kann. Daher hat Graetz mit Recht die Frage aufgeworfen, ob die praktischen Vorteile, welche die Nebeneinanderschaltung der beiden Methoden in diagnostischer Hinsicht bietet, auch in einem gesunden Verhältnis zu dem Mehraufwand an Zeit und Arbeitskraft und nicht zuletzt zu den ganz erheblich höheren Materialkosten stehen. Graetz vertritt in seiner Arbeit aber noch den Standpunkt, daß, bei der Wichtigkeit der Lues in volksgesundheitlicher Beziehung, diese Frage stellen, sie auch bejahen heißt.

Seitdem Graetz seine Versuchsergebnisse der Öffentlichkeit übergeben hat, haben sich allerdings die wirtschaftlichen Grundbedingungen Deutschlands sehr erheblich verschlechtert. Zurzeit ist eine so immense Verteuerung der für die Wassermannsche Reaktion benötigten Reagenzien, speziell der unbedingt erforderlichen Kaninchen und Meerschweinchen, eingetreten, daß es ein großes Untersuchungsmaterial schon aus finanziellen Rücksichten verbietet, eine Parallelschaltung der beiden Untersuchungsmethoden mit der Regelmäßigkeit vorzunehmen, mit der es auf der serologischen Abteilung des Barmbecker Krankenhauses seit 1904 an einem Material von ca. 50 000 Fällen durchgeführt wurde.

Die gewaltige Zunahme der Geschlechtskrankheiten, und zwar besonders der Luesinfektion während des Krieges und in der Zeit nach seiner Beendigung, hat der serologischen Abteilung des Barmbecker Krankenhauses eine solche Hochflut von Untersuchungsmaterial zugeführt, daß der Leiter dieser Abteilung teils aus Sparsamkeitsgründen, teils wegen der Unmöglichkeit, die immer knapper werdenden Meerschweinchen in ausreichender Menge zu beschaffen, vor die Entscheidung gestellt wurde, entweder auf die in mühevoller Arbeit erkannten Vorteile des Kältebindungsverfahrens zu verzichten,

oder einen Ausweg zu finden, der die diagnostischen Bedürfnisse und die wirtschaftlichen Erfordernisse in gleicher Weise zu berücksichtigen vermochte.

Dieser Ausweg, der von der serologischen Abteilung des Barmbecker Krankenhauses mit Erfolg betreten wurde, bot sich in der vom Standpunkt mehr theoretischer Erwägungen ausgehenden Forderung der beiden oben schon genannten dänischen Forscher, Thomsen und Boas, die dahin zielte, den Seris durch das langsame Durchlaufen der ganzen Temperaturbreite zwischen Kältepunkt und 37° die optimalen Bedingungen für die Komplementbindungen geben und auf diese die Originalmethode mit der Kältemethode zu kombinieren. Nach den Feststellungen von Thomsen und Boas schien eine derartige Kombination der verschiedenen Temperaturen durchaus aussichtsreich, da sich bei einschlägigen Untersuchungen ergeben hatte, daß die bei einer bestimmten Temperatur eintretende Komplementbindung als irreversibel gegenüber anderen Temperaturen gelten konnte. Und wenn es dann noch gelang, den Beweis zu erbringen, daß eine solche Kombination verschiedener Temperaturen die spezifische Reaktivität der Wassermannschen Reaktion nicht störend zu beeinflussen vermochte, dann war mit dieser Kombinationsmethode den diagnostischen Bedürfnissen ebenso Rechnung getragen, wie den wirtschaftlichen.

Der Leiter der bakteriologisch-serologischen Abteilung, Herr Dr. Graetz, hat mich nun mit der Aufgabe betraut, im Rahmen dieser Abhandlung über die Ergebnisse zu berichten, welche bisher auf der genannten Abteilung mit der sogenannten Kombinationsmethode erzielt worden sind, wobei ich im voraus gleich bemerken möchte, daß die Ergebnisse, sowohl hinsichtlich der Spezifität der Reaktion wie hinsichtlich der Leistungsfähigkeit der Methode durchaus den gehegten Erwartungen entsprochen haben.

Ehe ich nun auf die mit der kombinierten Methode erzielten Ergebnisse näher eingehe, möchte ich einige unerläßliche Angaben über die Versuchstechnik vorausschicken.

Das Barmbecker Institut hält sich bezüglich der Methodik im Prinzip an die grundlegenden Vorschriften der Originalmethode, ohne sich allerdings in Einzelheiten sklavisch an diese Vorschriften zu binden. So finden

z. B. neben den konventionellen alkoholischen Luesleber-Extrakten der Wassermannschen Schule auch die cholesterinierten Rinderherzextrakte nach Sachs, über deren diagnostische Verwendbarkeit Herr Dr. Graetz an anderer Stelle ausführlich berichtet hat, ausgiebige und erfolgreiche Verwendung. Auch bezüglich des hämolytischen Systems weicht die Methodik des Instituts insofern etwas von der Originalmethode ab, als für die Herstellung der vorschriftsmäßigen 5-proz. Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung von einem gut geschüttelten Vollblut und nicht vom gewaschenen Sediment ausgegangen wird. Ueber die Zulässigkeit dieser Maßnahme und über ihren Einfluß auf den Ablauf der Wassermannschen Reaktion hat sich erst kürzlich Graetz in einer im Archiv für Dermatologie (Unna-Festschrift) veröffentlichten Arbeit eingehender geäußert. Die beiden übrigen Teile des hämolytischen Systems, Ambozeptor und Komplement, werden gegen die genannte im Institut als konventionell geltende Blutaufschwemmung regelmäßig an jedem Versuchstag quantitativ austitriert. Um an den einzelnen Versuchstagen den Ergebnissen einheitliche Vorbedingungen gegenüber den an früheren Versuchstagen erhaltenen Resultaten zu schaffen, eine Forderung, welche im Interesse der Vermeidung von Unstimmigkeiten und im Interesse der Möglichkeit einer zusammenfassenden einheitlichen Beurteilung der ganzen Versuche geboten erscheint, wird regelmäßig an jedem Versuchstage der Hämoglobingehalt der jeweils verwendeten Aufschwemmung gegenüber einer gut konservierten Testlösung bestimmt und, je nach dem Ausfall dieser Hämoglobinprobe, durch weitere Verdünnung oder durch Hinzufügen weiterer gewaschener Blutkörperchen eine Gleichmäßigkeit der an verschiedenen Versuchstagen verwendeten Blutkörperchen-Aufschwemmungen zu erreichen versucht. Gegenüber der eben genauer geschilderten Hammelblutaufschwemmung erfolgt die Bestimmung der Komplement- bzw. Ambozeptoreinheit, wobei im eigentlichen Hauptversuch regelmäßig 4—5 Ambozeptoreinheiten Verwendung finden. Als Komplement dient durchweg Meerschweinchen Serum, welches mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt (10 Proz.) Verwendung findet. Die Gebrauchsdosis ist im Institut im Gegensatz zur Originalvorschrift keine konstante, sondern wird an jedem Versuchstag aus dem hämolytischen Effekt des Komplementes an sich und aus der unspezifischen Komplementbindung der Extrakte bzw. des Patientenserums regelmäßig quantitativ bestimmt.

Durch dieses dem geübten Untersucher unschwere und wenig Zeit raubende Verfahren wird die Gewähr gegeben, daß bei entsprechend ausgewerteter Gebrauchsdosis der Extrakte, auf welche wir gleich noch zu sprechen kommen werden, einmal die Einheitlichkeit der Ergebnisse nicht gestört, andererseits ein Unterlaufen schwerwiegender diagnostischer Irrtümer unmöglich gemacht wird. Ergänzend sei dazu noch bemerkt, daß die Prüfung des hämolytischen Systems an sich stets nur bei einer Temperatur bei 37° im Wasserbad vorgenommen wird, da zahlreiche einschlägige Versuche den Beweis geliefert haben, daß die Lösungsstärke des hämolytischen Systems und auch die wechselseitigen Mengenverhältnisse

von Blutkörperchen, Ambozeptor und Komplement durch eine Variation der Versuchstemperatur nicht störend beeinflusst werden.

Außer dem hämolytischen System werden fernerhin an jedem einzelnen Versuchstage auch die im Versuch verwendeten Luesleber- bzw. Cholesterin-Rinderherzextrakte gegenüber dem jeweils zur Verwendung kommenden Komplementgemisch zur Feststellung einer eventuellen antikomplementären Wirkung (Autotropie) austitriert und der eigentliche Hauptversuch mit dem fraglichen Komplement nur dann zugesetzt, wenn nach Abzug der durch eventuelle antikomplementäre Wirkung der Extrakte und, wie hier vorweggenommen sei, auch der Patientensera unspezifisch verbrauchten Komplementmenge noch ein genügender Ueberschuß an komplementärer Energie verbleibt, um den einwandfreien Ausfall der eigentlichen Komplementbindung zwischen Extrakt und Patientenserum zu gewährleisten. Hierzu genügt nach den Erfahrungen des Instituts durchschnittlich ein Ueberschuß von $1-1\frac{1}{2}$ Komplementeinheiten über die sogenannte unspezifische Komplementbindung.

Was die im Institut verwendeten Extrakte betrifft, so haben wir ja schon an verschiedenen Stellen darauf hingewiesen, daß für die Versuche sowohl die von Jakobsthal für die Kältemethode als besonders geeignet empfohlenen cholesterinierten Rinderherzextrakte nach Sachs, als auch die konventionellen Luesleberextrakte, welche beide im Institut selbst hergestellt und austitriert werden, Verwendung finden. Ferner standen zu Vergleichszwecken auch Original-Cholesterinextrakte von Sachs, sowie verschiedene im Kaiser Wilhelms-Institute zu Dahlem nach den Originalvorschriften v. Wassermanns hergestellte und austitrierte Luesleberextrakte zu Verfügung. Bezüglich der Leistungsfähigkeit und Qualität dieser einzelnen Extraktarten sei hervorgehoben, daß sich die im Institut selbst hergestellten Luesleberextrakte mit den aus Dahlem bezogenen Extrakten als völlig gleichwertig erwiesen. Beide Extraktarten standen aber bei vollkommener klinischer Spezifität der Cholesterinextrakte an Empfindlichkeit weit hinter den letzteren zurück.

Die Einstellung der Extrakte erfolgt bei unseren Versuchen in der Weise, daß die in entsprechenden Vorversuchen, deren Prinzip ja als bekannt vorausgesetzt werden darf, ermittelte optimale Gebrauchsdosis an jedem Versuchstage gegenüber fallenden Mengen des im hämolytischen Vorversuchs geprüften Komplementes bzw. Komplementgemisches austitriert wird, um eine eventuelle Autotropie des Extraktes festzustellen.

Das gleiche Verfahren findet für die Gebrauchsdosis des Patientensersums — bei sogenannten halben Versuchsmengen in der Regel 0,1 ccm Serum — Anwendung, indem auch hier die Gebrauchsdosis mit fallenden Komplementmengen bis zur Komplementeinheit titriert wird.

Im Hinblick auf die auch im Hauptversuch zur Anwendung gebrachte Kombination verschiedener Temperaturen werden diese Auswertungsversuche, welche bekanntlich ebenso wie der Hauptversuch zweizeitig zur Ausführung gelangen, der ganzen Temperaturbreite von 0° bis 37° unterworfen.

Es ist selbstverständlich, daß diese ausgiebigen Vorbereitungsarbeiten, welche der genauen Titration der zum Hauptversuch benötigten Reagenzien dienen, ein Mehr an Zeit und Arbeitskraft und gleichzeitig auch einen erhöhten Materialverbrauch beanspruchen, doch wird dadurch die Gewähr gleichmäßiger Versuchsergebnisse, welche für jedes genaue wissenschaftliche Arbeiten unerläßliche Vorbedingung ist, gegeben.

Kurz zusammengefaßt ergibt sich also nach dem im Institut geübten Verfahren folgender Ablauf des Versuchs.

In einem Vorversuch wird zunächst die Ambozeptoreinheit und parallel damit die Komplementeinheit bestimmt. Hieran schließt sich als weiterer Vorversuch die Titration der Extrakte bzw. der Patientensera. Zu diesem Zweck wird die Gebrauchsdosis des jeweils in Frage kommenden Extraktes mit fallenden Mengen des Komplementes bis zur Komplementeinheit gemischt, die einzelnen Versuchsröhrchen in schmelzendem Eis gut umgeschüttelt und dadurch abgekühlt und dann für 30—45 Minuten zur Bindung im Eisschrank bei einer Temperatur von 0° bis +4° C aufbewahrt. Alsdann erfolgt die Ueberführung der Reagenzgemische in das Wasserbad von 37°, wo sie zur weiteren Bindung ebenfalls eine halbe Stunde belassen werden. Nach Ablauf dieser Zeit erfolgt der Zusatz des hämolytischen Systems und nach Ablauf einer weiteren halben Stunde die Feststellung der Versuchsergebnisse. In gleicher Weise gestaltet sich der Vorversuch für die Feststellung einer eventuellen Autotropie des Patientenserums. Doch wird man sich bei der großen Menge der Patientensera in der Regel darauf beschränken müssen, diese letztere Prüfung gegenüber der Komplementeinheit oder nötigenfalls noch gegen eine kleine Vielheit derselben vorzunehmen, was nach den praktischen Erfahrungen des Instituts eine vollkommene Gewähr für einwandfreie Ergebnisse zu bieten vermag. Aus den beiden genannten Vorversuchen wird dann die für den Hauptversuch benötigte Komplementmenge bestimmt, welche nach den im Institut geübten Gebräuche ca. 1—1½ Komplementeinheit mehr beträgt, als die durch unspezifische Komplementbindung absorbierte Energie. Dabei wäre zu bemerken, daß die Kombination verschiedener Temperaturen die Autotropie der Extrakte durchweg günstig beeinflußt und praktisch in der Regel so gut wie völlig aufhebt.

Nachdem die einzelnen Reagenzien in der eben beschriebenen Weise in ihren Beziehungen zum hämolytischen System festgelegt sind, beginnt die Ausführung der eigentlichen, dem Nachweis der syphilitischen Reaktionskörper dienenden, Komplementbindungsreaktion. Zu diesem Zwecke werden die Gebrauchsdosen der für den Versuch bestimmten Extrakte mit der üblichen Menge des Patientenserums gemischt und nach Zusatz der im Vorversuch ermittelten Komplementmenge zwecks Abkühlung in einer mit schmelzendem Eis gefüllten Glasschale gut durchgeschüttelt und dann zur Bindung 30—45 Minuten im Eisschrank belassen. Hierauf erfolgt die Ueberführung der Reagenzglasgemische, in gleicher Weise wie bei den oben beschriebenen Vorversuchen, in das Wasserbad von 37°, worauf dann nach Ablauf einer Mindestzeit von 30 Minuten der Zusatz des restlichen hämolytischen Systems, d. h. der Blutkörperchen und des Ambozeptors,

erfolgt. Die Ablesung der Ergebnisse kann dann nach Ablauf einer weiteren halben Stunde endgültig erfolgen. Will man ein übriges tun, so können die Ergebnisse noch bis zum nächsten Tag im Eisschrank aufbewahrt und dann nochmals abgelesen werden, wobei sich allerdings nach ausgiebigen Erfahrungen eine Veränderung der Ergebnisse im Sinne sogenannter Späthämolysen bei schwächer reagierenden Seris nur denkbar selten ergibt.

Im Gegensatz zu dem von Guggenheimer, Altmann und Zimmern u. a. vorgeschlagenen Verfahren, welches auch im Institut jahrelang geübt wurde, erfordert die von uns in Anlehnung an Thomsen und Boas vorgeschlagene Kombinationsmethode nur das Ansetzen einer einzigen Versuchsserie, welche die ganze Temperaturbreite von 0—37° zu durchlaufen hat und somit die Vorzüge der Originalvorschrift und der Kältemethode in sich vereinigt. Das bedeutet einerseits eine gewaltige Ersparnis an Zeit und Arbeitskraft und bedingt andererseits eine Einschränkung des Materialverbrauchs um mindestens 50 Proz.

Eine derartige Untersuchungsmethode, welche in der Lage wäre, die Vorzüge zweier in großen Versuchsreihen bewährter Methoden mit einer erheblichen Vereinfachung der technischen Ausgestaltung zu verbinden, müßte naturgemäß für jedes serologische Institut zur Methode der Wahl erhoben werden, wenn ihre Anwendung die Gewähr böte, daß die mit der Methode erzielten Vorteile, namentlich sofern sie in der Richtung einer höheren Ausbeute an positiven Ergebnissen liegen, nicht zu Lasten der Spezifität gebucht werden müßten.

Wir kommen damit zur Besprechung der bis heute mit der Kombinationsmethode gewonnenen Ergebnisse und müssen an die Spitze dieser Besprechung wieder die Frage stellen, welche Graetz in seiner Arbeit über das Kältebindungsverfahren bereits aufgeworfen hat, ob nämlich die Kombination verschiedener Temperaturen, wie sie von uns in dem oben angegebenen Verfahren vorgeschlagen ist, nicht die Gefahr einer klinischen Unspezifität der Reaktionen in sich schließt. Graetz hat bezüglich der Kältemethode nach Jakobsthal mit Recht darauf hingewiesen, daß die Brauchbarkeit der genannten Modifikation mit ihrer absoluten klinischen Spezifität stehen und fallen müßte, und das für die Kältemethode Gesagte gilt selbstverständlich mutatis mutandis auch für die Kombinationsmethode.

Wir sind auf Grund ausgedehnter Vergleichsuntersuchungen, die heute ein Material von etwa 15 000 Fällen umfassen, und gestützt auf zahlreiche wissenschaftliche Versuche, in der Lage, die oben gestellte Frage nach der Spezifität rückhaltlos zu bejahen. Unter den vielen tausend Fällen, die im Verlaufe der letzten zehn Monate auf der serologischen Abteilung des Krankenhauses praktisch mit der Kombinationsmethode untersucht wurden, ist dem Leiter der Abteilung keine positive Reaktion entgegengetreten, deren Entstehung nicht durch eine anamnestisch oder klinisch erhärtete Lues zu erklären gewesen wäre. Dabei sei besonders hervorgehoben, daß namentlich unter den zahlreichen Seris luesfreier Individuen kein Serum angetroffen wurde, welches eine positive Reaktion ergeben hätte. Das gilt namentlich auch für solche Krankheitsfälle, bei denen erfahrungsgemäß in der Literatur häufiger von unspezifischen Reaktionen berichtet ist. Es ist im Rahmen dieser Abhandlung selbstverständlich nicht möglich, die Unsumme der dabei gewonnenen Einzelerfahrungen auch nur annähernd zur Wiedergabe zu bringen. Ich möchte mich zunächst vielmehr darauf beschränken, über eine Auswahl von Fällen zu berichten, über deren Verhalten ich persönlich an einer Reihe von Versuchstagen im Institut ein Urteil zu gewinnen vermochte. Es handelt sich hier um eine Versuchsreihe von 540 Fällen, welche gleichzeitig mit der Wassermannschen Originalmethode, mit der Kältemethode nach Jakobsthal und mit dem von uns vorgeschlagenen kombinierten Verfahren untersucht wurden. Darunter befanden sich 287 Fälle, die nach Klinik und Anamnese als luesfrei zu gelten hatten und die demgemäß auch bei allen drei Methoden übereinstimmend ein negatives Resultat ergaben. Ich möchte besonders darauf hinweisen, daß sich unter diesen Fällen nicht weniger als 81 Patienten mit Ulcus molle und schmerzhaften Bubonen befanden, Erkrankungen, bei denen häufiger über das Auftreten einer, wenn auch zeitlich beschränkten, positiven Wassermannschen Reaktion geklagt wird. Im übrigen enthielt diese Gruppe von Fällen auch Patienten mit Scharlach, Tuberkulose usw.

Bei dem Rest von 253 Fällen handelte es sich durchweg um notorische Syphilitiker, die zum Teil frische Krankheits-

7*

erscheinungen boten, zum Teil unter der Wirkung energischer Kuren zur Zeit der Untersuchung im Latenzstadium sich befanden. Davon entfallen auf das sogenannte primäre Stadium 47 Fälle, auf die manifeste Lues II insgesamt 36 Fälle, und auf das Latenzstadium 170 Fälle. Unter den Seris der letztgenannten 3 Gruppen von Syphilitikern befanden sich 101 Proben, welche bei allen drei von uns verwandten Untersuchungsmethoden übereinstimmend ein negatives Resultat ergaben. Davon entfallen auf die latente Lues 94 Fälle, auf die Lues II ein Fall, nämlich ein sogenanntes Monorezidiv mit Spirochäten, und endlich auf die primäre Lues 6 Fälle, die ebenfalls durch Spirochätenbefunde als echte Primäraffekte gekennzeichnet waren, bei denen aber zur Zeit der Untersuchung eine positive Wassermannsche Reaktion noch nicht ausgebildet war.

Der Rest von 152 Fällen umfaßt die positiven Ergebnisse dieser Versuchsreihen. Im Rahmen der von uns gewählten Versuchsanordnung ergaben hiervon 73 Fälle = 48,02 Proz. übereinstimmend mit allen 3 Methoden ein positives Resultat, während bei dem Rest von 79 Fällen = 51,98 Proz. erhebliche Differenzen in der Reaktivität der einzelnen Sera zutage traten, je nachdem die fraglichen Sera mit der Originalmethode, mit dem Kälteverfahren oder mit der kombinierten Methode zur Untersuchung gelangten. Die Differenzen bestanden dabei bald zwischen dem kombinierten Verfahren und der Original-Wassermann-Reaktion, bald zwischen der Kältemethode und der kombinierten Methode, wobei in der überwiegenden Zahl der Fälle der Ausfall der Reaktionen bei der kombinierten Methode mit dem Ergebnis der jeweils am stärksten anzeigenden Methode übereinstimmte. Die Kombinationsmethode arbeitet also im Sinne einer Maximalleistung. Nur in ganz vereinzelt Fällen konnten wir eine Uebereinstimmung mit der jeweils schwächeren Methode feststellen, gleichzeitig aber auch die Beobachtung machen, daß es mit Hilfe der Kombinationsmethode noch gelingt, im Serum von Syphilitikern, speziell nach energischen Behandlungen, noch Reaktionskörper nachzuweisen, deren Nachweis weder mit Hilfe der Original-Wassermann-Reaktion, noch mit der Kältemethode nach Jakobsthal geführt werden könnte.

Journ.-No.	Klinischer Befund	Original-Wassermann-Reaktion				Kombinationsmethode	
		bei 37° C		bei 0—4° C		bei 0—4—37° C	
		Leber-extrakt	Chole-sterin-extrakt	Leber-extrakt	Chole-sterin-extrakt	Leber-extrakt	Chole-sterin-extrakt
5985	Ulc. durum.	0	0	+++	+++	+++	+++
6044	dgl.	0	0	0	0	+++	+++
6045	"	0	0	0	0	+++	+++
6076	"	+++	+	+++	+++	+++	+++
6080	"	+++	0	+++	+++	+++	+++
6117	"	+++	0	+++	+	+++	+++
6151	"	+	+	+++	+++	+++	+++
6154	"	+++	0	+++	+++	+++	+++
6470	"	+++	+++	+	0	+++	+++
6796	"	+	+	+++	+++	+++	+++
6810	"	0	0	++	+++	+++	+++
3932	"	0	+++	+++	+++	+++	+++
3967	"	0	+++	+++	+++	+++	+++
4370	"	+++	+++	0	0	+++	+++
4386	"	0	0	++	+++	0	+++
4390	"	0	+	+++	+++	++	+++
4408	"	+	+++	+++	+++	+++	+++
5402	"	0	+++	++	+++	++	+++
5421	"	+	++	0	0	+++	+++
3967	"	0	+++	+++	+++	+++	+++
6173	"	++	+++	+++	+++	+++	+++
5987	Monorezidiv	++	++	+++	+++	+++	+++
6073	Lues II	+++	0	+++	+++	+++	+
6163	" Monorezidiv	0	0	+++	+	+++	+
4472	" II	+	++	+++	+++	+++	+++
5405	Pap. muc.	+	+++	0	+++	+++	+++
5425	Lues II	+++	+++	++	++	+++	+++
5406	" III Aortitis	+++	+++	+++	0	+++	+++
6134	Monorezidiv	0	0	+++	+	++	++
4474	Lues I Linser	0	0	+	++	+	+
5411	dgl.	+	++	0	+	+	+++
5984	Lues lat. beh.	0	0	+++	+++	+++	+++
5991	dgl.	+	++	+++	+++	+++	+++
5995	"	0	0	+++	+	+++	++
6086	"	0	0	+++	+++	+++	+++
6089	"	0	0	++	+++	+++	+++
6090	"	0	0	++	+++	0	0
6101	"	0	0	0	0	+++	+++
6124	"	+	0	+++	+++	+++	+++
6127	"	0	0	+++	0	+++	0
6136	"	0	0	+++	0	+++	0
4457	"	0	+++	+++	+++	+	+++
4454	"	+	+++	+++	+++	+	+++
4448	"	+++	+++	+++	+++	++	+++
4447	"	++	+	+	++	++	+
3960	"	0	++	+++	+++	+++	+++
6811	"	++	++	++	+	++	++
6802	"	+++	+++	+++	+++	++	+++
6801	"	0	0	0	0	++	+++

Journ.-No.	Klinischer Befund	Original-Wassermann-Reaktion				Kombinationsmethode	
		bei 37° C		bei 0—4° C		bei 0—4—37° C	
		Leber-extrakt	Cholesterin-extrakt	Leber-extrakt	Cholesterin-extrakt	Leber-extrakt	Cholesterin-extrakt
6800	Lues lat. beh.	θ	θ	++	++	++	+++
6798	dgl.	θ	θ	+	++	+	+++
6468	"	++	++	+++	+++	+++	+++
6467	"	++	++	θ	θ	+++	+++
6466	"	+	+	+++	+++	+++	+++
6465	"	+	+	θ	θ	++	+++
6093	"	θ	θ	θ	θ	+++	++
5996	"	θ	θ	θ	θ	+++	+++
6001	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6004	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6032	"	+++	θ	+++	θ	+++	+++
6274	"	++	++	+++	+++	+++	+++
6477	"	+	+	+++	+++	+++	+++
6460	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6343	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6172	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6159	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6067	"	θ	++	θ	+++	+++	+++
6042	"	θ	θ	+++	+++	+++	+++
6040	"	θ	θ	θ	+++	+++	+++
6793	"	++	++	+++	+++	+++	+++
6817	"	θ	θ	+	++	++	+++
6816	"	+	+	++	+++	+++	+++
4391	"	++	+++	+++	+++	+++	+++
3950	"	++	+++	+++	+++	+++	+++
4412	"	+	++	+++	+++	+++	+++
4468	"	θ	++	+++	+++	+++	+++
4377	"	θ	θ	+++	+++	θ	θ
4374	"	+	++	+++	+++	+	++
4397	"	+++	++	θ	θ	+++	+++
4417	"	θ	θ	++	+++	++	+++

Erklärung der Zeichen: θ = komplette Hämolyse, +++ = komplette Hemmung der Hämolyse, ++ = starke Hemmung der Hämolyse, + = spurweise Hemmung der Hämolyse.

Aus der vorstehenden Tabelle lassen sich die Verhältnisse, soweit die prinzipiellen wechselseitigen Beziehungen der drei Methoden in Frage kommen, mit ziemlicher Klarheit erkennen. Auf eine prozentuale Berechnung der kleinen Unterschiede zwischen den einzelnen Methoden möchten wir im Hinblick auf die verhältnismäßig kleine Versuchsreihe verzichten, da aus der Beurteilung kleiner Materialien erfahrungsgemäß nur allzu leicht ein falsches Bild über die Leistungsfähigkeit einer Methode entstehen kann. — Nur was das

Gesamtergebnis unserer Versuchsreihe anlangt, möchten wir hervorheben, daß in nicht weniger als 85,37 Proz. der von uns untersuchten Fälle ein übereinstimmendes Ergebnis mit allen drei Methoden erzielt wurde. Die Differenzen beschränken sich auf 14,63 Proz., wobei nochmals betont sei, daß mit Ausnahme ganz weniger Fälle stets eine Uebereinstimmung der Kombinationsmethode mit der jeweils besseren Methode besteht. Hierdurch wird ohne Einschränkung der Spezifität der Ergebnisse ein so erhebliches Plus an einwandfreien positiven Ergebnissen erzielt, wie es sonst nur durch die erheblich zeitraubendere Nebeneinanderschaltung von Original-Wassermann-Reaktion und Kältemethode möglich wäre, daß die vereinzelt erhaltenen Ergebnisse, bei denen die Kombinationsmethode mit der jeweils schwächeren Methode übereinstimmt, praktisch so gut wie nicht ins Gewicht fallen. Im übrigen ist es bei so vereinzelt erhaltenen Fällen ein Leichtes, sich durch Nebeneinanderschaltung der beiden anderen Methoden davon zu überzeugen, ob die Komplementbindungsreaktion bei Kombination mehrerer Temperaturen das gleiche Bild von der Reaktivität eines Serums entwirft, wie die anderen beiden Methoden, sofern die Wichtigkeit eines Falles die Anwendung derartiger Maßnahmen angebracht erscheinen läßt. Praktisch wird dieser Fall besonders dann eintreten, wenn es erwünscht erscheint, den Verlauf der Reaktionskurve eines Syphilitikerserums unter dem Einfluß einer spezifischen Kur systematisch zu kontrollieren, da die Reaktivität eines Serums erfahrungsgemäß durch die Therapie bei den verschiedenen Patienten bald im Sinne einer ausgesprochenen Kältebindungsfähigkeit, bald mehr im Sinne einer ausgesprochenen Wärmebindungsfähigkeit beeinflusst wird.

Welche erheblichen individuellen Schwankungen in dieser Beziehung bei den verschiedenen Seris und in den verschiedenen Stadien der Lues bestehen, das können wir aus der schon mehrfach genannten Arbeit von Graetz erkennen, deren Ergebnisse uns auch zugleich ausreichende Anhaltspunkte zu geben vermögen, welche Ergebnisse wir mit der Kombinationsmethode im Vergleich zu der Original-Wassermann-Reaktion und der gleichzeitig parallelgeschalteten Kältemethode nach Jakobsthal zu erwarten haben.

Bei seinen vergleichenden Untersuchungen über die relative Leistungsfähigkeit von Original-Wassermann-Reaktion und Kältemethode fand Graetz bei seinem, alle Stadien der Lues umfassenden, Gesamtmaterial, soweit es positive Reaktionen aufzuweisen hatte, vorausgesetzt, daß ausschließlich cholesterinierte Rinderherzextrakte Verwendung fanden, eine Uebereinstimmung beider Methoden bei insgesamt 74,12 Proz. der von ihm untersuchten Fälle, während bei dem Rest von 25,88 Proz. der Fälle Differenzen im Ausfall der Reaktionen bestanden, indem die positive Reaktion der betreffenden Sera teils nur bei Wärmebindung, teils nur bei der Kälte in Erscheinung getreten war. Trotzdem von diesen unterschiedlich reagierenden Seris nur 18,37 Proz. ausschließlich bei niederen Temperaturen eine positive Reaktion aufwiesen, während 7,51 Proz. nur bei der Original-Wassermann-Reaktion (37°) zur positiven Reaktion zu bringen waren, ergab sich für das Gesamtmaterial bei Verwendung der Cholesterinextrakte immerhin noch ein Ueberschuß von 10,76 Proz. positiver Reaktionen. An sich mag der Ueberschuß ja gering erscheinen, doch darf dabei nicht vergessen werden, daß gerade die Cholesterinextrakte nach den umfangreichen Feststellungen von Graetz als in weitem Maße außerhalb des Temperatureinflusses stehend gelten können, und daß demgemäß die Unterschiede zwischen den beiden Reaktionen nicht so scharf ins Auge fallen, wie bei den temperaturempfindlicheren konventionellen Luesleberextrakten. Immerhin würde unter Berücksichtigung der oben erwähnten Tatsache, daß die Kombinationsmethode bei der überwiegenden Anzahl der Fälle, soweit sie reaktive Stoffe im Sinne der Wassermannschen Reaktion enthalten, die Tendenz zur Uebereinstimmung mit der jeweils stärkst reagierenden Methode zeigt, für die Kombinationsmethode ebenfalls mit einem Mindestüberschuß von 10 Proz. positiver Reaktionen zu rechnen sein, und dies bei einer nur unwesentlich größeren Arbeitsleistung als bei der Original-Wassermann-Reaktion und ohne wesentliche Erhöhung des Materialverbrauchs.

Weit auffallender gestaltete sich der Unterschied in den Reaktionsergebnissen zwischen der Original-Wassermann-Reaktion und der Kältemethode bzw. zwischen der Original-

Wassermann-Reaktion und der von uns vorgeschlagenen Kombinationsmethode, wenn die Reaktion nicht mit den cholesterinierten Extrakten nach Sachs, sondern mit einem der konventionellen Luesleberextrakte, wie sie ja noch heute in den meisten Instituten Verwendung finden, angestellt wurde. Dabei war es für die Reaktivität der verschiedenen Sera so gut wie gleichgültig, woher die betreffenden Luesleberextrakte stammten, da für die Unterschiedlichkeit in der Reaktivität der einzelnen Sera die Herkunft der Extrakte weniger bedeutsam ins Gewicht fällt, als die von Graetz besonders betonte Tatsache, ob ein fraglicher Extrakt Cholesterinzusatz enthält oder nicht. Der Cholesterinzusatz zu einem a priori cholesterinfreien Extrakt wirkt dabei im Sinne eines Ausgleiches in bezug auf die verschiedene Empfindlichkeit der beiden Extraktarten und hat insofern eine Umwandlung des ursprünglich cholesterinfreien Extraktes zur Folge, als die Reaktivität des Extraktes mit den verschiedenen Seris weiter aus dem Bereich des Temperatureinflusses gerückt wird.

Den besten Beleg geben in dieser Hinsicht wieder die von Graetz angegebenen zahlenmäßigen Berechnungen, die sich auf das gleiche, bereits oben für die Cholesterinextrakte besprochene Material beziehen, welches vergleichsweise mit den Luesleberextrakten, aber unter sonst durchaus gleichen Versuchsbedingungen geprüft ist. Unter den von uns untersuchten Seris, bei denen mit irgendeiner der von uns verwendeten Methoden ein Gehalt an Syphilisreaginen überhaupt ermittelt werden konnte, ergaben bei Verwendung der Luesleberextrakte 60,22 Proz. ein übereinstimmendes Resultat, gleichgültig, ob die Reaktion nach den Vorschriften der Original-Wassermann-Reaktion, oder nach denen des Kälteverfahrens ausgeführt wurde. Ein Reaktionsunterschied zwischen beiden Methoden bestand dagegen bei 39,38 Proz. der geprüften Fälle, wobei 36,90 Proz. der positiven Ergebnisse ausschließlich zugunsten der Kältemethode gebucht werden mußten, während die von Guggenheimer u. a. beobachtete Tatsache, daß für manche Sera die Original-Wassermann-Reaktion als die empfindlichere Methode gelten müsse, für das vorliegende Material nur bei 2,88 Proz. der Sera in Erscheinung trat. Das bedeutet also, selbst nach Abzug der

letztgenannten 2,88 Proz. zugunsten der Wärmemethode, für das Kälteverfahren, soweit dabei alkoholische Luesleberextrakte Verwendung finden, einen Ueberschuß von nicht weniger als 34,02 Proz. an positiven Reaktionen, eine Feststellung, die, wie Graetz sich ausdrückt, „um so bedeutsamer bleibt, als die Luesleberextrakte auch heute noch die bei weitem ausgedehntere Verwendung finden, als die Cholesterinextrakte nach Sachs, deren Verwendung noch zahlreiche namhafte Institute ablehnend gegenüberstehen“. Und da sich diese Ueberlegenheit der Kältemethode auch für die Luesleberextrakte fast durchweg auf alle Stadien der Lues erstreckt, bei einer allerdings unverkennbaren Bevorzugung des sogenannten Tertiärstadiums und der Spätlatenz, so erscheint uns die Einführung der Kältemethode in die serologische Syphilisdiagnostik bei Verwendung der Luesleberextrakte geradezu als eine naturnotwendige Forderung. Und dieser Forderung kann nach unseren Erfahrungen auch ohne die Parallelschaltung der beiden Methoden eben durch die Verwendung der Kombinationsmethode Rechnung getragen werden, da es auch für die Luesleberextrakte, in gleicher Weise wie für die Cholesterinextrakte, in der Kombinationsmethode als Reaktionsgesetz gilt, daß die Kombinationsmethode bei absoluter klinischer Spezifität ihrer Ergebnisse in ihrer Reaktivität der Empfindlichkeit der jeweils am stärksten positiv anzeigenden Methode entspricht. Auch für die Luesleberextrakte gilt dabei natürlich die Erfahrung, daß bei einem geringen Prozentsatz der Fälle — etwa 2—3 Proz. — das Ergebnis der Kombinationsmethode mit dem der jeweils am wenigsten empfindlichen Methode übereinstimmt, was demgemäß eine Verminderung des oben genannten Ueberschusses nach sich ziehen müßte. Alles in allem wäre also bei Einführung der Kombinationsmethode und unter der Voraussetzung der ausschließlichen Verwendung der Luesleberextrakte mit einem Mindestüberschuß von 30 Proz. klinisch spezifischer positiver Ergebnisse gegenüber der Original-Wassermann-Reaktion zu rechnen, ein Ergebnis, das um so bedeutsamer erscheint, als es unter weitgehendster Berücksichtigung der Originaltechnik und ohne erheblicheren Aufwand an Arbeitskraft und Materialkosten erzielt werden kann.

Angesichts der Verschiedenartigkeit der Luesleberextrakte und der Cholesterinextrakte und der wechselnden Affinität von Seris aus den verschiedenen Stadien der Lues bald zu der einen, bald zu der anderen Extraktart, halten wir es auch bei der Kombinationsmethode für dringend erforderlich, die beiden Extraktarten stets nebeneinander zu verwenden, da wir hierdurch eine möglichst restlose serologische Erfassung aller luesverdächtigen Fälle für gewährleistet erachten. Im Gegensatz zu der Nebeneinanderschaltung von Original-Wassermann-Reaktion und Kältemethode, wo außer den Reaktionsunterschieden der beiden unter verschiedenen Temperaturbedingungen arbeitenden Methoden auch noch die verschiedene Empfindlichkeit von Luesleber- bzw. Cholesterinextrakten häufig die Beurteilung und Bewertung der Reaktionsergebnisse erschwerte, tritt bei der Kombinationsmethode dieser Unterschied der beiden Methoden zugunsten eines einheitlichen Ergebnisses in den Hintergrund, und außerdem wird auch in der Reaktivität der verschiedenen Extrakte ein erfreulicher Ausgleich im Sinne einer größeren Uebereinstimmung der beiden Extraktarten geschaffen.

Der Charakter der Kombinationsmethode als eines auf maximale Leistungsfähigkeit eingestellten Untersuchungsverfahrens birgt in sich naturgemäß die Vorzüge und Nachteile der beiden Methoden, aus denen die Kombination hervorgegangen ist. Mit Hilfe des Kombinationsverfahrens ist es möglich, unter Ersparnis von Zeit, Arbeitskraft und Untersuchungsmaterial eine ad maximum gesteigerte diagnostische Empfindlichkeit der Wassermannschen Reaktion, trotz Wahrung der klinischen Spezifität, zu erzielen, die besonders dann gerechtfertigt und sogar notwendig erscheint, wenn man sich bezüglich der nosologischen Auffassung der Wassermannschen Reaktion Neisser und seiner Schule anschließt und die Wassermannsche Reaktion als den Ausdruck einer noch nicht erloschenen Lues betrachtet. In ihrer verschärften diagnostischen Form ermöglicht es die Methodik allerdings nicht ohne weiteres, die biologischen Veränderungen und Reaktivitätsschwankungen festzustellen, welche die verschiedenen Sera von Syphilitikern unter dem Einfluß einer spezifischen Kur erfahren. Altmann, Altmann und Zimmern

sowie vor allem Graetz haben darauf hingewiesen, daß sich die therapeutische Beeinflussung eines Syphilitikerserums häufig in einem Verschwinden der Reaktivität bei der Original-Wassermann-Reaktion äußert, während die Reaktivität bei niederen Temperaturen noch unverändert erhalten bleibt, wobei natürlich auch für manche Sera mutatis mutandis die Tatsache besteht, daß sich der therapeutische Einfluß zunächst auf die Reaktivität des Serums bei niederen Temperaturen beschränkt. Im allgemeinen gilt dabei wohl die Erfahrung, daß der therapeutische Einfluß bei der überwiegenden Zahl der Fälle bei der Wärmebindung anzugreifen vermag, wobei noch gleichzeitig die Tatsache in Erscheinung tritt, daß zunächst die Reaktivität des Serums gegenüber den Luesleberextrakten in der Wärme schwindet, während die Reaktion mit den Cholesterinextrakten auch unter den Bedingungen der Original-Wassermann-Reaktion meist noch bestehen bleibt, um dann erst im Verlauf weiterer therapeutischer Maßnahmen zu schwinden. Welch erhebliche Beeinflussung die Reaktivität des Serums gegenüber den Luesleberextrakten speziell unter den Bedingungen der Original-Wassermann-Reaktion durch die spezifische Therapie erfährt, möge nur ein zahlenmäßiges Beispiel aus der Arbeit von Graetz beleuchten, welches zeigt, daß z. B. in der Latenz unter dem Einfluß der vorangegangenen Therapie eine solche Verschiebung der Reaktivitätsverhältnisse stattgefunden hat, daß bei Verwendung der Luesleberextrakte ein Ueberschuß von 40,49 Proz. positiver Ergebnisse zugunsten der Kältemethode in Erscheinung tritt. Bei ausschließlicher Verwendung der Kombinationsmethode würden diese 40,49 Proz. positiver Reaktionen, die sich bei dem Kälteverfahren als ausgesprochen stark positive Reaktionen dokumentierten, entsprechend den Reaktionsgesetzen der Kombinationsmethode, ebenfalls als stark positive Reaktionen in Erscheinung treten und dadurch den für die Beurteilung des therapeutischen Erfolges bedeutsamea Einfluß auf die Reaktivität des Serums verschleiern und somit unserer Kenntnis entziehen. Bei der Kombinationsmethode treten solche therapeutische Einflüsse erst dann sichtbar in Erscheinung, wenn die Therapie die Reaktivität des einzelnen Serums so weit beeinflusst hat, daß entweder für alle Extrakte oder wenigstens

für den einen oder anderen desselben ein so erheblicher Schwund der Syphilisreagine eingetreten ist, daß auch unter den verschärften Bedingungen der Kombinationsmethode die für Syphilis charakteristische Komplementbindung nicht mehr oder wenigstens nicht mehr in vollem Umfange zustande kommen kann. Eine negative Reaktion bei der Kombinationsmethode wird also vom biologischen Gesichtspunkt aus entschieden mehr im Sinne eines Erlöschens der Lues gedeutet werden dürfen, als eine unter den Bedingungen der Original-Wassermann-Reaktion erzielte negative Reaktion, während andererseits auch eine stark positive Reaktion, die vermittels der Kombinationsmethode erzielt ist, wohl vielfach nicht die pathognomonische Bedeutung beanspruchen darf, wie eine gleich starke, aber unter den Bedingungen der Original-Wassermann-Reaktion erzielte Reaktion. Will man also über die Reaktivitätsschwankungen des Syphilitikerserums in den verschiedenen Phasen der Infektion und namentlich unter dem Einfluß der Therapie etwas Genaueres erfahren, so empfiehlt es sich unseres Erachtens, außer der Kombinationsmethode auch noch die Original-Wassermann-Reaktion und die Kältemethode getrennt nebeneinander anzusetzen und damit zunächst alle Möglichkeiten zu erschöpfen, die uns an prinzipiell gleichartig aufgebauten Methoden für das Studium der Serumbiologie syphilitisch infizierter Menschen zur Verfügung stehen. Wir sind in Fällen, die uns wichtig genug schienen, um den dadurch bedingten Mehraufwand an Zeit, Material und Arbeitskraft zu rechtfertigen, schon sehr häufig dazu übergegangen, die genannten drei Methoden nebeneinander anzuwenden, und haben dabei eben jene Ergebnisse erzielt, wie wir sie beispielsweise in unserer weiter oben wiedergegebenen Tabelle niedergelegt haben. Dabei möchten wir betonen, daß wir die von uns allerdings nicht weiter systematisch geprüfte Möglichkeit, durch quantitativen Ausbau der Kombinationsmethode, sei es durch Abstufung des Komplementes, des Extraktes oder der Sera, jene feineren Reaktivitätsunterschiede der Sera auch in einer Methode zum Ausdruck zu bringen, für durchaus gegeben halten. Wir haben diesem Ziele bei unseren vorliegenden Studien nicht nachgestrebt, sondern uns darauf beschränkt, die Kombinationsmethode lediglich qualitativ in ihrer dia-

gnostischen Leistungsfähigkeit zu analysieren, ein Versuch, der unseres Erachtens den Beweis erbracht hat, daß die Kombinationsmethode bei voller Wahrung der klinischen Spezifität der Ergebnisse diagnostisch das zu leisten vermag, was sonst nur durch die Parallelschaltung von Original-Wassermann-Reaktion und Kältemethode zu erreichen wäre, d. h. unter Bedingungen, die sich unter den schwierigen äußeren Verhältnissen der Gegenwart meist nicht in die Wirklichkeit umsetzen lassen.

Wir sind am Schluß unserer Ausführung angelangt und möchten kurz zusammengefaßt nochmals die wesentlichsten Punkte wiedergeben.

Zusammenfassung.

1) Die Erfahrung hat gelehrt, daß die Versuchstemperatur von 37° beim Komplementbindungsphänomen in der Wassermannschen Reaktion keineswegs für alle Sera die optimalen Bedingungen bietet. Infolgedessen sind bei der technischen Ausgestaltung der Wassermannschen Reaktion, als der Methode der Wahl, solche Versuchsanordnungen anzustreben, welche allen Seris, wie auch immer die Art, die Anzahl und die Bindungstendenz ihrer spezifischen Reagine gestaltet sein möge, optimale Bedingungen für eine eventuelle Komplementbindung gewährleisten.

2) Nach dem derzeitigen Stand unserer Erfahrungen bietet die Original-Wassermann-Reaktion ohne Berücksichtigung der Temperatureinflüsse auf das Komplementbindungsphänomen des Syphilitikerserums während der sogenannten Bindungsphase diese Vorbedingungen nicht.

3) Auch das von Jakobsthal angegebene Kältebindungsverfahren ist seinerseits, bei voller Würdigung seiner Spezifität und seiner relativen Ueberlegenheit über die Originalmethode bei dem größten Teil der Fälle, bei ausschließlicher Anwendung nicht in der Lage, eine restlose Erfassung aller die spezifischen Reagine enthaltenden Sera zu ermöglichen.

4) Nur durch eine Parallelschaltung der beiden Methoden, wie sie von Guggenheimer, Graetz u. a. vorgeschlagen

wurde, wäre das erstrebte Ziel der Höchstleistung zu erreichen. Außere Schwierigkeiten, vor allem bezüglich der Materialbeschaffung, lassen aber eine Parallelschaltung der beiden Methoden bei einem größeren Material untunlich erscheinen.

5) Durch eine Kombination der beiden genannten Methoden im Sinne von Thomsen und Boas lassen sich unter Erhaltung der wesentlichen Vorzüge jeder Einzelmethode die letztgenannten Schwierigkeiten beseitigen. Die Kombinationsmethode schließt sich eng an das von Wassermann angegebene Originalverfahren an, ist in einer Versuchsserie, in der sämtliche erforderlichen Temperaturen durchlaufen werden, ausführbar, und beansprucht, abgesehen von etwas längerer Bindungszeit, keinen nennenswerten Mehraufwand an Material und Arbeitskraft. Dabei weist das kombinierte Verfahren durch seine große Empfindlichkeit und Feinheit die umfassendsten und daher besten Leistungen auf, unbeschadet seiner völligen Spezifität in biologischer und klinischer Hinsicht.

6) Für eine erfolgreiche Anwendung des kombinierten Verfahrens darf die Bedeutung der jeweils verwendeten Extrakte, welche mehr oder weniger stark durch Temperatureinflüsse in ihrer biologischen Reaktivität mit den jeweils untersuchten Seris moduliert werden, nicht außer acht gelassen werden. Soweit Original-Wassermann-Reaktion und Kälteverfahren getrennt in Frage kommen, erscheinen die cholesterinfreien Luesleberextrakte als die am meisten temperaturempfindlichen und sind in ihrer Reaktivität oft weitgehend von der Anwendung der niederen Temperaturen abhängig. Die Cholesterinextrakte zeigen dagegen geringere Abhängigkeit vom Temperaturoptimum und erscheinen somit für das getrennte Verfahren als die empfehlenswerteren. Bei der Kombination erfolgt ein Ausgleich zugunsten der Luesleberextrakte, wodurch eine gleichwertige Verwendung beider Extrakte ermöglicht wird. Bei der wechselnden Affinität vieler Sera bald zu den Luesleber- bald zu den Cholesterinextrakten erscheint es angebracht, stets beide Extrakte nebeneinander zu verwenden, um dadurch eine Höchstleistung der Methode zu gewährleisten.

7) Diese Höchstleistung beschränkt sich auf das diagnostische Gebiet, für die Feststellung feinerer Serumqualitäten empfiehlt es sich, durch Parallelschaltung der drei Methoden sämtliche Möglichkeiten zu erschöpfen.

Literaturverzeichnis.

- E. Jakobsthal, Notiz zur Theorie und Praxis der Wassermannschen Reaktion. Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 13, p. 689.
- H. Guggenheimer, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Wassermannsche Syphilisreaktion. Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 26.
- Neufeld und Händel, Ueber Komplementbindung und Komplementablenkung bei 0 und bei 37°. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 38, 1908.
- K. Altmann und F. Zimmern, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Komplementbindung bei Syphilis. Arch. f. Dermat. u. Syph., Bd. 111, p. 837.
- Ueber den Einfluß der Temperatur auf die Komplementbindung bei Syphilis. Ebenda, Bd. 116, p. 871.
- H. Sachs und K. Altmann, Ueber den Einfluß der Reaktion auf das Zustandekommen der Wassermannschen Komplementbindung bei Syphilis. Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14, p. 699.
- — Ueber den Einfluß von Temperatur und Medium auf die Serodiagnostik der Syphilis. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 26, Heft 5.
- Fr. Graetz, Ueber den Einfluß der Temperatur auf das Komplementbindungsvermögen bei der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionsk., Bd. 89, p. 285.
- Satta und Donati, Arch. per le scienze med., Vol. 23, No. 11.
- E. Thomsen und H. Boas, Der Einfluß der Temperatur auf die Komplementbindung in der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 18, p. 516.
- R. Bottler, Ueber die Brauchbarkeit von Rinderherzextrakten mit Cholesterinzusatz bei der Wassermannschen Reaktion. Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Bd. 116, Heft 1, p. 259.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4916

Nachdruck verboten.

[Aus dem bakteriologisch-serologischen Laboratorium der hygienischen Untersuchungsanstalt des Volksgesundheitsamtes in Wien
(Vorstand: Prof. Dr. Russ).]

Experimentelle Studien über die Funktion der Milz bei der Agglutininproduktion.

Von

Prof. Dr. **Viktor K. Russ** und Assistenten Dr. **Leopold Kirschner**.

Mit 8 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Dezember 1920.)

Die Entdeckung der Tatsache, daß der Organismus auf die parenterale Einführung von verschiedenen Substanzen mit der Bildung spezifischer Schutzstoffe reagiere, hat begreiflicherweise die Anregung gegeben, jene Zellkomplexe des Körpers zu suchen, in welchen diese „Antikörper“ gebildet werden. Es würde zu weit führen, wollten wir hier auf die ausgedehnte Literatur über diese Frage auch nur cursorisch eingehen, es sei nur erwähnt, daß eine beträchtliche Anzahl von Autoren in erster Linie die lymphatischen Zellkomplexe im Körper (Leukozyten, Milz, Knochenmark, Lymphdrüsen, Thymus etc.) als die Quellen jener Reaktionsprodukte auffassen, welche wir je nach ihrer Wirksamkeit als Antitoxine, Agglutinine, Präzipitine, Hämolysine usw. bezeichnen. Diese Annahme stützt sich zum Teil auch auf Beobachtungen früherer Zeit, wonach bei gewissen Infektionskrankheiten gerade diese Zellverbände pathologische Veränderungen (Schwellungen u. dgl.) oder aber in vitro nachweisbare bakterienfeindliche Eigenschaften zeigen (Phagocytose) (Metschnikoff, Cesario Demel, Kurlow, Tictin, Bardach, Melnikow-Raswedenkow, Courmont und Duffreau, Blumreich und Jacoby, etc.). Besonders die Milz wurde vielfach untersucht, ob sie als der Ausgangspunkt für die im Blutserum nachweisbaren Antikörper

anzusehen sei (Kanthak, Tizzoni und Cantani, Foà und Scabia, Muntuori, Benario, Pfeiffer und Marx, Wassermann, Shibayama, Dömeny, Tarrasewitsch, Jakuschewitsch, Deutsch, Leukart und Becht, McGowan, Hektoen u. a. m.). Die Resultate der durchgeführten Untersuchungen sind recht verschieden und stehen sich vielfach schroff gegenüber. Ein Teil der Autoren findet, daß Extrakte aus der Milz und anderen lymphatischen Organen immunisierter Tiere sich gegenüber dem zugehörigen Antigen in vitro wesentlich wirksamer erweisen als das Blutserum derselben, während wieder andere Untersucher gerade zu einem gegenteiligen Ergebnisse kommen. Demgemäß ziehen erstere Forscher den Schluß, daß das betreffende Organ als Bildungsstätte des Antikörpers aufzufassen sei, während letztere dessen Bedeutung für die Produktion der Abwehrstoffe leugnen. Abgesehen von dem Umstande, daß die Untersuchungen der verschiedenen Autoren vielfach mit einer recht differenten Technik durchgeführt sind, haftet der Mehrzahl jener Experimente, in welchen Organextrakte benützt wurden, eine gemeinsame Fehlerquelle an: Die beiden Vergleichsobjekte, welche am tertium comparationis — dem Antigen — in vitro oder in vivo quantitativ gemessen werden, stellen in Wirklichkeit ja nur das Vehikel für die eigentlich zu untersuchende Substanz dar, für deren quantitatives Vorhandensein wieder nur relative Maßstäbe gelten. In allen erwähnten Versuchen sind nun die beiden Vehikel — Blutserum einerseits und Milz- bzw. Organextrakt andererseits — von Haus aus so verschieden, daß sie niemals als Basis zu einem relativen Vergleich herangezogen werden können und aus dem Ausfall solcher Versuche dann weitere Schlüsse gezogen werden dürfen. Die Herstellung des Organextraktes *x* ist ja eine rein willkürliche, namentlich was die Menge des Extraktionsmittels — meist handelt es sich um physiologische Kochsalzlösung — anlangt. Der Nachweis, daß in einem Organextrakt mehr Antikörper enthalten sind, d. h. daß er in stärkeren Verdünnungen das Antigen spezifisch zu beeinflussen vermag als das Blutserum, gestattet nicht, aus einem solchen positiven Ausfall des Versuches zu schließen, dieses Organ sei die Bildungsstätte des Antikörpers. Hier liegt der Einwand nahe, daß man eben von einem zu konzentrierten, den natürlichen Dilutionsverhältnissen

in keiner Weise entsprechenden, Materiale ausgegangen ist. Andererseits liegt bei einem negativen Resultat, d. h. bei dem Nachweise, daß der Organextrakt weniger Antikörper enthält als das Blutserum oder deren gar keine, außer dem Bedenken, daß unnatürliche Verdünnungsverhältnisse im Organextrakte vorhanden waren, auch nicht die Möglichkeit vor, daß gerade dieses Organ, dessen Extrakt sich als so wenig wirksam erwiesen hat, als Bildungsstätte des Antikörpers in Betracht kommt. Denn es ist ganz gut denkbar, daß die von einem Zellkomplex produzierten Substanzen gleichsam in statu nascendi sofort an die Körperflüssigkeit abgegeben werden und sich vorerst nicht so weit anhäufen, daß sie mittels der doch immerhin groben Methoden quantitativ nachweisbar wären.

Man kann wohl mit Recht sagen, daß alle diese Experimente zur Klärung der Frage nach der Bildungsstätte der Antikörper recht wenig beigetragen haben. Man steht auf diesem Gebiete auch heute trotz mannigfaltiger anderer Experimente, die wir gleich besprechen werden, noch immer lediglich auf dem Boden der Hypothese.

Diese Versuche, auf welche wir eben anspielten, stellten es sich zur Aufgabe, per exclusionem das als Bildungsstätte der Antikörper in Betracht kommende Organ festzustellen oder mit anderen Worten, zu prüfen, ob ein Organismus, in welchem man einen für diese Funktion als bedeutsam angenommenen Zellkomplex ausgeschaltet hat, noch immer in der Lage ist, auf die Injektion von Antigen spezifische Antikörper zu bilden.

Die in dieser Frage veröffentlichten Arbeiten sind außerordentlich zahlreich (s. a. oben). Wir möchten hier nur auf jene Publikationen näher eingehen, welche sich mit der Bedeutung der Milz als Bildungsstätte der Agglutinine beschäftigen, soweit sie nicht schon bisher ausführlich in den verschiedensten Publikationen referiert sind, wie z. B. die Mitteilungen von Rath, Van Emden, Deutsch etc. Besonders wichtig erscheinen uns von den neueren Mitteilungen die Arbeit von Kraus und Schiffmann, in welcher gezeigt wird, daß Tiere, welche 6 Tage vor der Injektion des Agglutinogens splenektomiert worden sind, ebensogut Agglutinine bilden, wie Kaninchen, bei denen 24 Stunden, 48 Stunden oder 3 Tage nach der Antigeninjektion die Milz entfernt worden war. Beide Gruppen von Versuchs-

8*

tieren unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Agglutininbildung in keiner Weise von entsprechenden Kontrolltieren. Demnach stehen die Autoren auf dem Standpunkte, daß die Milz als Bildungsstätte der Agglutinine nicht in Betracht kommt, eine Annahme, für welche sie noch als weitere Stütze die Tatsache anführen, daß die Agglutinine nach Antigeninjektion im Blute wesentlich früher und weiterhin auch in größeren Mengen auftreten als in Extrakten aus der Milz der immunisierten Kaninchen. Der Ausfall ihrer Versuche veranlaßt die Autoren auch, sich gegen die Annahme von Deutsch über die Entstehung von sogenannten Proagglutininen in den inneren Organen zu wenden. Sie weisen ausdrücklich hin, daß die Agglutinine im Gegensatze zu den bakteriziden Antikörpern nicht in der Milz, dem Knochenmark oder den Lymphdrüsen ihre Ursprungsquelle besitzen, sondern innerhalb des Gefäßsystems gebildet werden. Ähnliches gilt von den Präzipitinen. Zu übereinstimmenden Resultaten war schon früher Castellani gekommen, der nachweisen konnte, daß die Agglutinine gegen Ruhrbazillen früher im Blutserum erscheinen, als sie in Milzextrakten nachweisbar sind. Hektoen, der entmilzten Kaninchen Menschenblut injiziert hatte, beschreibt ein geringes Auftreten von Präzipitinen, reichlicher Hämagglutinine und spärlicher Lysine, woraus er den Schluß zieht, daß die Splenektomie vor der Immunisierung die Bildung einzelner Antikörper mehr einschränkt als die anderer. Er müsse der Milz und den lymphatischen Organen bei der Antikörperproduktion eine entscheidende Rolle zuschreiben, da einerseits seine Versuche mit Hämolysinen dafür sprechen, andererseits aber auch die Experimente von Carell und Ingebrigtsen, welche mitteilen, daß es ihnen gelungen sei, außerhalb des Organismus in künstlichen Kulturen von Knochenmark- und Lymphdrüsengewebe bei Anwesenheit von Antigen eine Antikörperproduktion zu beobachten (Hämolysine). Auch Leukart und Becht geben an, daß Hunde nach vorheriger Entmilzung schlechter Hämolysine produzieren als normale, bei welchen sie — um dem Einwand, daß die Shockwirkung der Operation diesen Einfluß ausübe, zu begegnen — lediglich eine Laparotomiewunde gesetzt hatten. In gewisser Hinsicht gehören auch die Versuche von Brezina hierher, welcher durch subkutane Injektion von Meerschweinchenmilz an Hühnern und

Enten ein gegen dieses Organ gerichtetes Antiserum herstellte, mit welchem er dann Meerschweinchen mehrmals behandelte, um eine Schädigung der Milzzellen zu erzielen. Einige Zeit nach dieser Vorbehandlung erhalten die Meerschweinchen dann eine Injektion von Coli-Kultur, worauf dann 8 Tage später ihr Serum auf den Agglutiningehalt gegenüber *Bact. coli* geprüft wird. Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß die mit dem Antimilzserum vorbehandelten Meerschweinchen eine wesentliche Herabsetzung der Fähigkeit, Agglutinine zu produzieren, besitzen. Ganz gleiches gilt von Tieren, welche mit einem Antiknochenmarkserum vorbehandelt waren. Diese Versuche würden wieder darauf hindeuten, daß die Milz ebenso wie das Knochenmark für die Bildung der Agglutinine sehr notwendige Organe darstellen.

Eigene Versuche.

I.

Vorerst suchten wir uns zu überzeugen, welchen Einfluß die Exstirpation der Milz auf die Bildung der Agglutinine besitze. Zu diesem Zwecke stellten wir die Versuchsreihe Ia mit 3 möglichst gleichgewichtigen Tieren ein, von denen wir bei zweien in üblicher Weise die Splenektomie vornahmen, während das dritte Tier zur Kontrolle diente¹⁾. 10 Tage nach der Operation — die Wunde war inzwischen per primam geheilt — verabreichten wir den beiden entmilzten Kaninchen [No. 21²⁾ und No. 60] ebenso wie dem Kontrolltiere (No. 38) eine intravenöse Injektion von $\frac{1}{10}$ Oese Typhusbacillen, abgetötet durch $\frac{1}{2}$ Stunde bei 58°. Von nun an wurde den Tieren in Intervallen von 2 Tagen ein Probeaderlaß (ca. $1\frac{1}{2}$ ccm Blut) aus der Ohrvene gemacht und das gewonnene Serum auf seinen Ag-

1) Wir möchten hier nur kurz erwähnen, daß sich die Splenektomie bei Kaninchen als eine ganz einfache Operation erwies, die wir derart durchführten, daß wir nach Eröffnung des Peritoneums die Milz vorzogen und den ganzen Stiel doppelt ligierten und hierauf durchschnitten. Der Stumpf wurde wieder in die Bauchhöhle versenkt, hierauf das Peritoneum, dann die Muskulatur mit Seide genäht und darüber die Haut mit Michelschen Klammern geschlossen. Die Wunde wurde sodann mit Dermatol bestreut und mit Kollodium überstrichen.

2) Das Kaninchen No. 21 war schon früher mit Menschenserum vorbehandelt worden und hatte sich als schlechter Präzipitinbildner erwiesen.

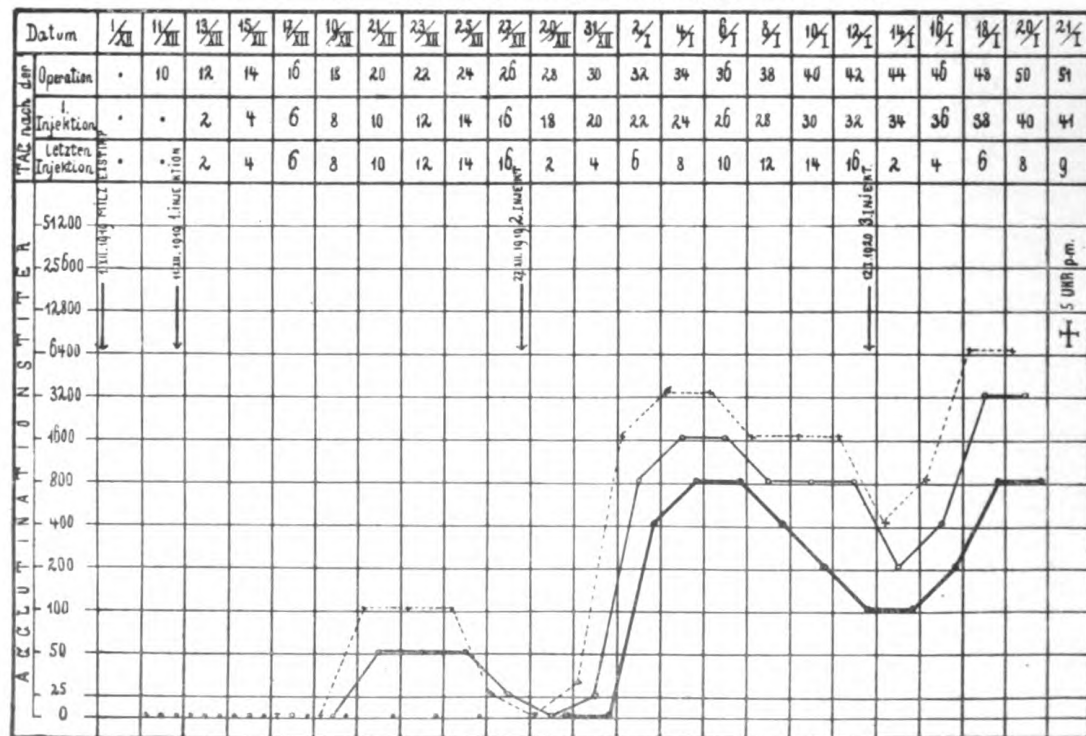
glutiningehalt mit dem homologen Typhusstamm geprüft, dessen gute Agglutinabilität wir durch einen Kontrollversuch mit einem hochwirksamen agglutinierenden Serum jeweils festgestellt hatten.

Die Prüfung des Agglutiningehaltes erfolgte ausschließlich makroskopisch. Die Beobachtungszeit der Proben wurde mit 4 Stunden bei 37°

Kaninchen № 21 [im Oktober 1949 dreimal mit Menschenserum injiziert, geringe Präzipitinbildung, $29\frac{1}{2}$ Präzipitintiter 1:100 ++] oper. XII 1949

Injektionen: $\frac{23}{2}$ 0,5 Menschenserum, $\frac{30}{2}$ 0,5 „ „, $\frac{10}{2}$ 1,0 Menschenserum, $\frac{1}{2}$ 1,0 Dose abgetötet, $\frac{2}{2}$ 1,0 Dose abgetötet, $\frac{42}{2}$ 1,0 Dose abgetötet

Gewicht d. Tieres: $\frac{1}{2}$ 1020 g, $\frac{4}{25}$ 1270 g, $\frac{9}{25}$ 1370 g, $\frac{23}{25}$ 1430 g, $\frac{27}{25}$ 1380 g, $\frac{5}{25}$ 1370 g, $\frac{12}{25}$ 1400 g, $\frac{22}{25}$ 1370 g



Kurve 1.

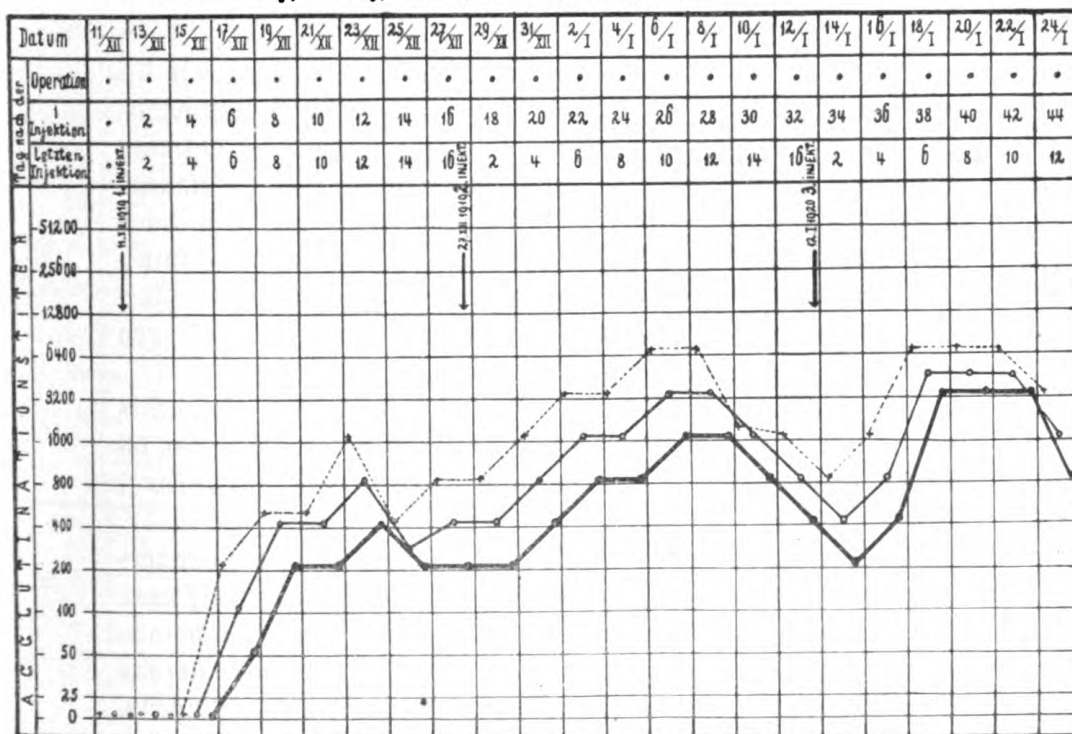
gewählt, wonach die Ablesung mit der Lupe erfolgte. Der Einfachheit halber wurden nur drei Werte angenommen: komplette Agglutination bei klarer überstehender Flüssigkeit und massigem Bodensatz (in den Kurven mit dem dicken Strich verzeichnet), inkomplette Agglutination bei vorhandenem Bodensatz und leicht getrübler, feinflockiger überstehender Flüssigkeit (in den Kurven mit dem dünnen Strich verzeichnet) und endlich Spur Agglutination bei Fehlen eines Bodensatzes, jedoch noch mit der Lupe sichtbarer Flockenbildung (in den Kurven mit dem punktierten Strich verzeichnet). Begonnen wurde mit einer Serum-

verdünnung von 1:12,5, zu welcher wir die gleiche Menge einer Aufschwemmung von Typhusbacillen (eine 24-stündige Schrägagarkultur in 10 cem physiologischer Kochsalzlösung) zusetzten. Das Gesamtvolumen der Flüssigkeit in jedem Proberöhrchen betrug 1 cem. Mit Rücksicht auf die großen Versuchsreihen haben wir nur dann Zwischenstufen in den, in den Kurven angeführten Serumverdünnungen eingeschaltet, wenn das gewonnene Resultat uns nicht eindeutig erschien.

Kaninchen № 38 [normales Tier], nicht operiert

Injektionen: $\frac{1}{100}$ Dose abgetötet, $\frac{1}{200}$ Dose abgetötet, $\frac{1}{400}$ Dose abgetötet

Gewicht d. Tieres: $\frac{1}{100}$ 1350 g, $\frac{1}{200}$ 1500 g, $\frac{1}{400}$ 1490 g, $\frac{1}{800}$ 1430 g, $\frac{1}{1600}$ 1480 g, $\frac{1}{3200}$ 1580 g



Kurve 2.

Diese Versuchstechnik verwendeten wir bei allen folgend verzeichneten Versuchen völlig gleichmäßig.

Aus den vorstehenden Kurven 1 und 2¹⁾ ist das zeitliche Auftreten der Agglutinine und deren quantitatives Verhalten im Serum der Versuchstiere zu ersehen.

1) Infolge der Druckkosten müssen wir auf Ersuchen des Verlages auf die Wiedergabe einer größeren Zahl von Kurven verzichten.

Dabei ergibt sich die interessante Tatsache, daß die entmilzten Kaninchen (No. 21 und 60) im Laufe der nächsten 16 Tage nach der erfolgten Injektion von Typhusbacillen nur spurenweise Agglutinine bildeten, während das normale Tier (No. 38) auf die gleiche Menge Agglutinogen bereits am 6. Tage nach der Injektion deutliche Mengen von Agglutininen in seinem Serum aufwies, welche bis zum 12. Tag eine noch weitere Steigerung erfuhren, um sich dann wieder etwas zu verringern.

Wir möchten hier darauf hinweisen, daß das als schlechter Präzipitinbildner uns bereits bekannte Kaninchen No. 21 auf die Agglutinogeninjektion sogar etwas besser reagierte als das Kaninchen No. 60.

Zu einem fast kongruenten Ergebnisse gelangten wir bei der Versuchsreihe Ib, die sich ebenfalls über 3 Kaninchen (No. 41, 53 und 58) erstreckte, von denen wir zwei entmilzt hatten (No. 41 und 53) und sonst genau so mit ihnen verfahren waren, wie mit den Tieren der Versuchsreihe Ia, d. h. auch diese Tiere erhielten 10 Tage nach der Operation eine intravenöse Injektion von $\frac{1}{10}$ Oese abgetöteter Typhusbacillen (derselbe Stamm wie bei Versuchsreihe Ia), worauf in 2-tägigen Intervallen die Aderlässe gemacht wurden.

Die nachfolgende Kurve 3 zeigte das gewonnene Versuchsergebnis für Kaninchen No. 41. Die Kurve der Kaninchen No. 53 und 58 entsprachen völlig denen der Kaninchen No. 21 bzw. 38 des vorigen Versuches.

Auch hier sehen wir, daß die beiden entmilzten Tiere innerhalb des Zeitraumes von 16 Tagen nach der Injektion nur ganz geringe Mengen von Agglutininen in ihrem Serum erkennen lassen, wogegen das, eine Milz besitzende Kontrolltier bereits am 4. Tage nach der Injektion Agglutinine im Blute führte.

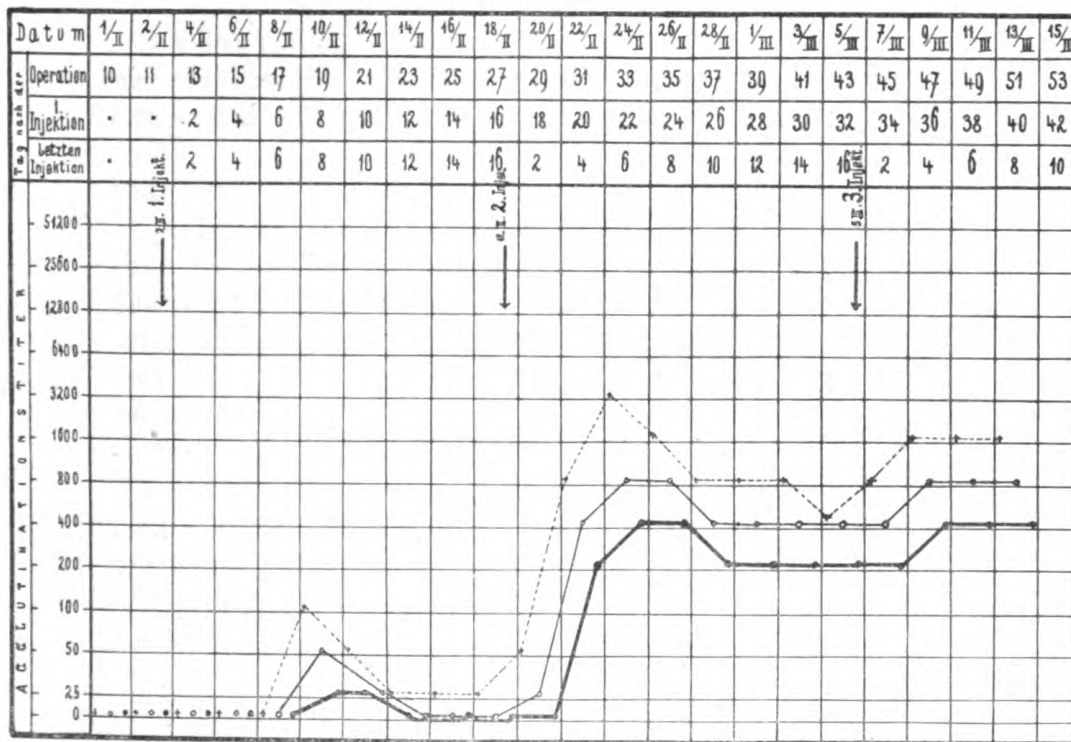
Aus diesen beiden Versuchen geht wohl einwandfrei hervor, daß die Splenektomie auf die Bildung der Agglutinine einen deutlich hemmenden Einfluß ausübt, wie er für die Produktion von Hämolytinen bereits von anderer Seite gefunden wurde (s. o., Leukart und Becht, Hektoen etc.).

Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir aus unseren Versuchsergebnissen den Schluß ziehen, daß der Milz eine bedeutsame Rolle als Bildungsstätte der Agglutinine zukommt.

Kaninchen № 41 [normales Tier] operiert am 22. I. 1920.

Injektionen: $\frac{2}{11}$ 1/10 Dose abgetötet, $\frac{1}{11}$ 1/2 Dose abgetötet, $\frac{5}{11}$ 1/2 Dose abgetötet

Gewicht a Tieres: $\frac{22}{11}$ 1420 g, $\frac{24}{11}$ 1450 g, $\frac{16}{11}$ 1300 g, $\frac{18}{11}$ 1480 g, $\frac{26}{11}$ 1550 g



Kurve 3.

Es ergab sich nun von selbst die Frage, in welcher Weise die entmilzten Kaninchen auf eine neuerliche Injektion desselben Agglutinogens reagieren würden. Wir injizierten daher allen 6 Kaninchen der Versuchsreihen Ia und Ib 16 Tage nach der ersten Injektion ein Quantum abgetöteter Typhusbacillen und setzten die Auswertung der zweitägig gewonnenen Aderlässe in gleicher Weise, wie bisher, fort.

Wenn wir nun die Kurven 1—3 weiter verfolgen, so sehen wir aus dem steilen Ansteigen der Agglutinincurve, daß auch die entmilzten Tiere nunmehr rasch und kräftig Agglutinine zu bilden vermögen, deren Quantität ungefähr den Agglutininmengen der nicht entmilzten Tiere, während der 16 Tage nach der ersten Injektion die Wage hält, ohne sie allerdings völlig zu erreichen. Daß die nicht entmilzten Tiere eine weitere Stei-

gerung des Agglutinititers ihres Serums aufwiesen, ist natürlich zu erwarten gewesen. Auffällig ist, daß bei den entmilzten Tieren das Auftreten der Agglutinine nach der zweiten Injektion rascher zu erfolgen scheint als bei den nicht entmilzten nach der ersten Einspritzung des Antigens, gleichsam als wollte sich der Organismus beeilen, den Zeitverlust, den er durch die fehlende Milz für die Bildung der Antikörper erlitten hatte, jetzt hereinzubringen.

Der Ausfall dieser zweiten Periode unserer beiden ersten Versuchsreihen deutet wohl daraufhin, daß der Organismus durch den Reiz der ersten Antigeninjektion veranlaßt wurde, an Stelle der fehlenden Milz als einer der wichtigsten Bildungsstätten der Agglutinine vikariierend für diesen Zweck geeignete Zellkomplexe noch mehr zu befähigen, mit einer kräftigen Agglutininproduktion auf die zweite Agglutinininjektion einzusetzen.

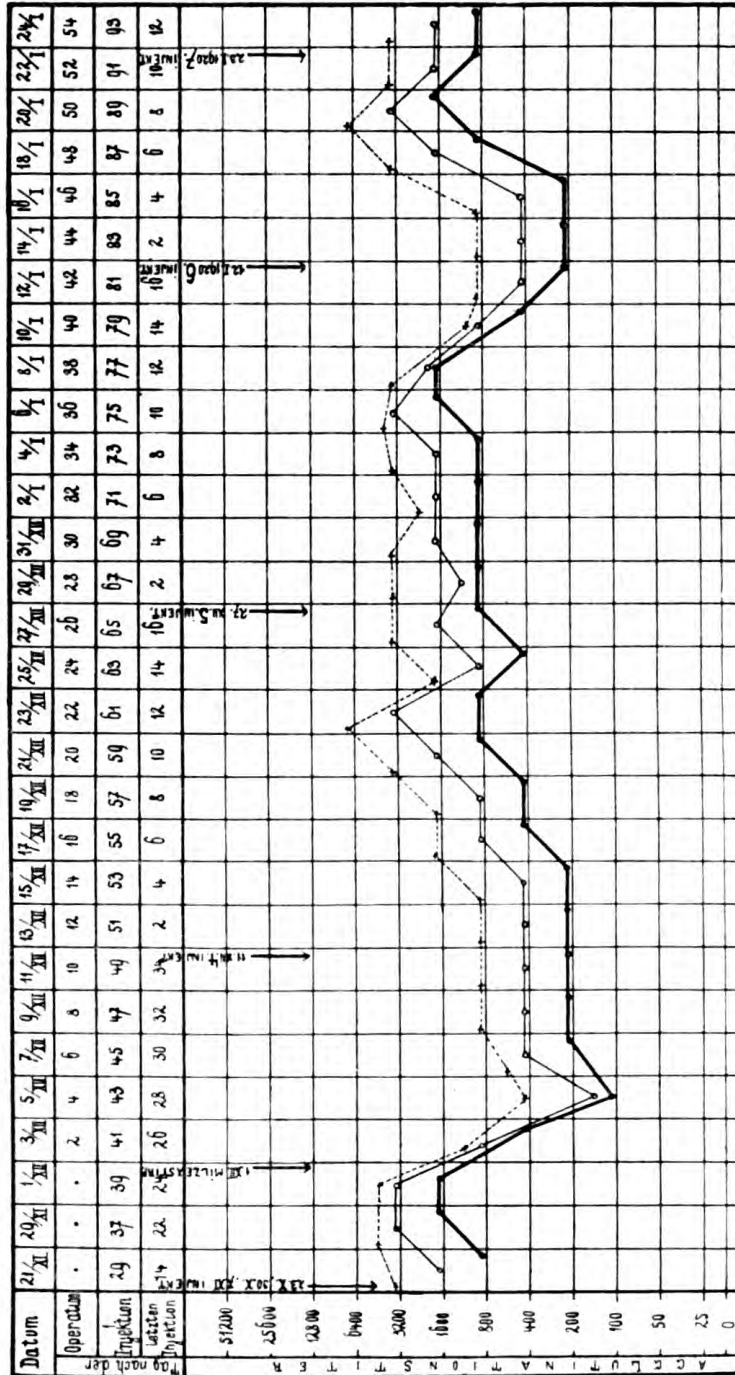
Beim weiteren Studium der Kurven 1—3 sehen wir nun, daß auch nach der zweiten Injektion der Agglutinationstiter des Serums der entmilzten und normalen Kaninchen kein gleichmäßig hoher bleibt oder sonst eine Regelmäßigkeit in seinem Verhalten aufweist. Bei einem der milzführenden Tiere (No. 58) hält sich der Titer ungefähr auf gleicher Höhe, während bei dem anderen bald ein beträchtliches Absinken festzustellen ist. Wenn nun auch alle entmilzten Tiere eine Verringerung des Agglutiningehaltes ihres Serums zeigen, so ist doch dieselbe nicht immer so deutlich ausgeprägt, daß daraus weitere Schlüsse auf ein baldiges Versagen der vikariierenden Zellkomplexe als Bildungsstätten der Agglutinine gezogen werden könnten. Jedenfalls vermag eine dritte Injektion desselben Antigens wieder eine Erhöhung des Agglutiningehaltes der entmilzten wie auch der normalen Tiere hervorzurufen.

Anschließend an die beiden erwähnten Versuchsreihen möchten wir eine weitere (II) erwähnen, welche 2 Kaninchen umfaßt, die wir vor der Splenektomie bereits seit längerer Zeit mit Typhusbazillen behandelt hatten (Kaninchen No. 56 und 72). Diese Versuche stellten nur eine Wiederholung bereits bekannter Experimente dar, welche zeigten, daß die Entmilzung immunisierter Tiere keinen Einfluß auf den Antikörpergehalt

Kaninchen №56 [Typhus-Immunisier], operiert am 1.XII.1919.

[illegible]

Cewient d. Tiores: $\frac{1}{2}$ 1080 g, $\frac{1}{2}$ 1150 g, $\frac{1}{2}$ 1310 g, $\frac{7}{22}$ 1400 g, $\frac{23}{22}$ 1430 g, $\frac{37}{22}$ 1420 g, $\frac{51}{22}$ 1440 g, $\frac{123}{22}$ 1410 g, $\frac{223}{22}$ 1450 g



Kurve 4.

werde, war mehr oder weniger zu erwarten, da ja die Splenektomie immerhin einen Eingriff darstellt, den der Organismus nicht völlig reaktionslos hinnehmen dürfte und wir ja wissen, daß die mannigfaltigsten äußeren Einflüsse zu oft beträchtlichen Schwankungen des Antikörpergehaltes des Blutserums Anlaß geben können.

In der Tat vermögen wir aus der Kurve 4 zu entnehmen, daß bei Kaninchen No. 56 wenige Tage nach der Operation ein ziemlich jäher Absturz der Agglutinincurve erfolgt, der erst durch eine neuerliche Injektion von Antigen bis 10 Tage nach der Operation paralytisiert wird. Bei Kaninchen No. 72, welches wie Kaninchen No. 56 behandelt wurde, tritt ein solcher Abfall des Agglutiningehaltes nicht so deutlich zutage, wenn er auch hier erkennbar ist. Eine neuerliche Injektion treibt den Titer bald über die frühere Höhe hinaus. Nach diesen beiden Versuchen müssen wir uns der Ansicht jener Autoren anschließen, welche sagen, daß die Splenektomie des bereits antikörperführenden Tieres keinen dauernden Einfluß auf den Antikörpergehalt des Blutes ausübt.

Diese Tatsache steht mit den Befunden unserer Versuchsreihen Ia und Ib in keinerlei Widerspruch, da wir ja daraus gerade mit Sicherheit annehmen können, daß die Milz nicht allein befähigt ist, Antikörper zu produzieren, sondern daß bei der Immunisierung sicherlich auch andere Zellkomplexe — vielleicht nur die lymphatischen Organe — an der Antikörperbildung beteiligt sind. Es mag sein, daß diese Mitwirkung unter normalen Verhältnissen in geringerem Maße sich ausdrückt. Man kann sich nun ganz gut vorstellen, daß bei einem immunisierten Tiere der Agglutiningehalt des Serums die Summe aller Agglutininmengen darstellt, welche von den zur Agglutininproduktion allerdings verschieden befähigten, aber gleichmäßig gereizten, diversen Zellkomplexen gebildet worden waren. Wird nun auch der, vielleicht wichtigste Faktor — die Milz — plötzlich ausgeschaltet, so bleibt den übrigen, wenn auch minder intensiv bisher funktionierenden Organen die Produktionskraft nicht nur in gleichem Maße erhalten, sondern sie übernehmen rasch auch noch die Aufgabe des ausgefallenen. So tritt keine wesentliche Störung in der Agglutininbildung auf, wenn man den oben erwähnten Absturz in der Kurve über-

haupt als solche durch den Ausfall der Milz und nicht allein durch den geschehenen Eingriff auffassen will. Während hier die mit der Antikörperproduktion schon beschäftigten „Bildungsstätten zweiter Ordnung“ nur mehr eine quantitativ erhöhte Leistungsfähigkeit aufweisen müssen, welche sicherlich viel rascher einsetzen kann, sind diese bei der Versuchsanordnung unserer Experimente Ia und Ib, soweit sie sich auf die entmilzten Tiere beziehen, genötigt, von Haus aus eine verstärkte Antikörperproduktion zu vollführen, wozu sie eben nicht nur einer längeren Zeit, sondern auch eines intensiveren Reizes in Form einer neuerlichen Antigenezufuhr bedürfen.

II.

Nachdem wir nun festgestellt zu haben glauben, daß die Milz ein wichtiger Faktor bei der Agglutininproduktion ist, haben wir es unternommen, die von Fleckseder gemachten klinischen Erfahrungen experimentell zu untersuchen. Bekanntlich konnte Fleckseder feststellen, daß im Blute von Personen, welche einmal an Typhus gelitten hatten oder einer Typhusschutzimpfung unterzogen worden waren, bei später auftretenden fieberhaften Erkrankungen verschiedenster Aetiology eine Steigerung des agglutinatorischen Titors im Serum gegenüber Typhusbacillen, verbunden mit einer Milzschwellung, nachzuweisen sei. Diese Erhöhung des agglutinatorischen Titors und der akute Milztumor ließen sich auch ohne daß sie an einer fieberhaften Erkrankung augenblicklich litten, experimentell durch Injektion von fiebererregenden Mitteln (Deuteroalbumose, Natrium nucleinicum, Streptokokkenvaccine) erzeugen. Fleckseder zieht aus seinen Beobachtungen den vielleicht zu weitgehenden Schluß, daß die Wirkung der genannten pyrogenen Stoffe ebenso wie interkurrierende Temperaturerhöhungen durch irgendwelche Erkrankungen „zu einer Art Ausschüttung oder Ausschwemmung von Agglutininen aus gewissen inneren Sammel- und Bildungsstätten führen“ und daß als solche besonders die Milz in Betracht käme. Nachdem Weichardt und seine Mitarbeiter bereits früher die von vielen Seiten beschriebene günstige Wirkung der Proteinkörpertherapie auf die sog. „Protoplasmaaktivierung“ zurückgeführt hatten, stellen sich Weichardt und Schader auf den Standpunkt,

daß auch die Beobachtungen Fleckseders auf eine Richtung der Protoplasmaaktivierung zu beziehen seien. Sie konnten zeigen, daß der Agglutinationstiter des Serums von Kaninchen, welche mit Typhusimpfstoff immunisiert waren, nach einer und nach mehreren Injektionen pyrogener Stoffe (Deuteroalbumose, Natrium nucleinicum, Milch) eine wesentliche Steigerung erfährt. Zwar erhöhte sich der Gehalt an Normalagglutininen gegenüber Typhusbacillen im Serum nicht vorbehandelter Tiere auch, jedoch nur nach der ersten Injektion pyrogener Substanzen, während eine zweite Injektion bewirkt, daß die Menge der Normalagglutinine sogar unter den Durchschnitt sinkt. Sowohl aus den Versuchen Fleckseders am Menschen, wie auch aus den Experimenten Weichhardt und Schaders an Tieren hat sich ergeben, daß die Deuteroalbumose hinsichtlich der Steigerung des Agglutinintiters das wirksamste pyrogene Mittel ist, was der erstgenannte Autor auf den Umstand bezieht, daß es ein nur kurz dauerndes Fieber setzt. Fleckseder stellt sich den Zusammenhang zwischen Fieber und erhöhtem Agglutiningehalt des Serums so vor, daß er annimmt, die mit dem Milztumor verbundene stärkere Durchblutung dieses Organes bewirke einen Reiz auf die Milz zur verstärkten Agglutininbildung, während die darauffolgende Verkleinerung der Milz erst zur Ausschwemmung der Agglutinine in das Blut führt. Ob diese Annahme dem tatsächlichen Vorgange entspricht, mag dahingestellt bleiben, da es bei dieser Vorstellung darauf ankäme, daß die Zellelemente der Milz die von ihnen produzierten Agglutinine zuerst so lange speichern, bis die Verkleinerung der Milz auftritt, welche dann die Agglutinine gleichsam aus den Zellelementen in den Blutstrom preßt. Gegen eine solche Speicherung sprechen aber die Untersuchungen älterer Autoren (s. o.) — soweit sie nach den eingangs gemachten kritischen Bemerkungen überhaupt zur Klärung der Frage von der Milzfunktion bei der Agglutininbildung herangezogen werden können — wonach sich Extrakte der Milz agglutininführender Tiere als nicht oder nur wenig spezifisch wirksam erwiesen hatten.

Um die Wirkung der Deuteroalbumose auf entmilzte und mit Typhusbacillen immunisierte Tiere zu studieren, haben

wir zuerst einen Vorversuch unternommen und dem Kaninchen No. 60 der Versuchsreihe Ia, welches vor fast 4 Monaten splenektomiert und hierauf mit Typhusbacillen immunisiert worden war und sich als guter Agglutininbildner erwiesen hatte, eine Menge von 0,1 g Deuteroalbumose Merck — gelöst in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung — subkutan injiziert. Durch mehrere Tage vorher hatten wir uns durch viermalige Messungen der Körpertemperatur (rektal) von deren normalen Stande überzeugt und durch gleichzeitige kleine Aderlässe (ca. 1 ccm Blut jedesmal) und nachfolgender Titrierung des Serums mit dem homologen Stamm dessen Gehalt an Agglutininen festgestellt.

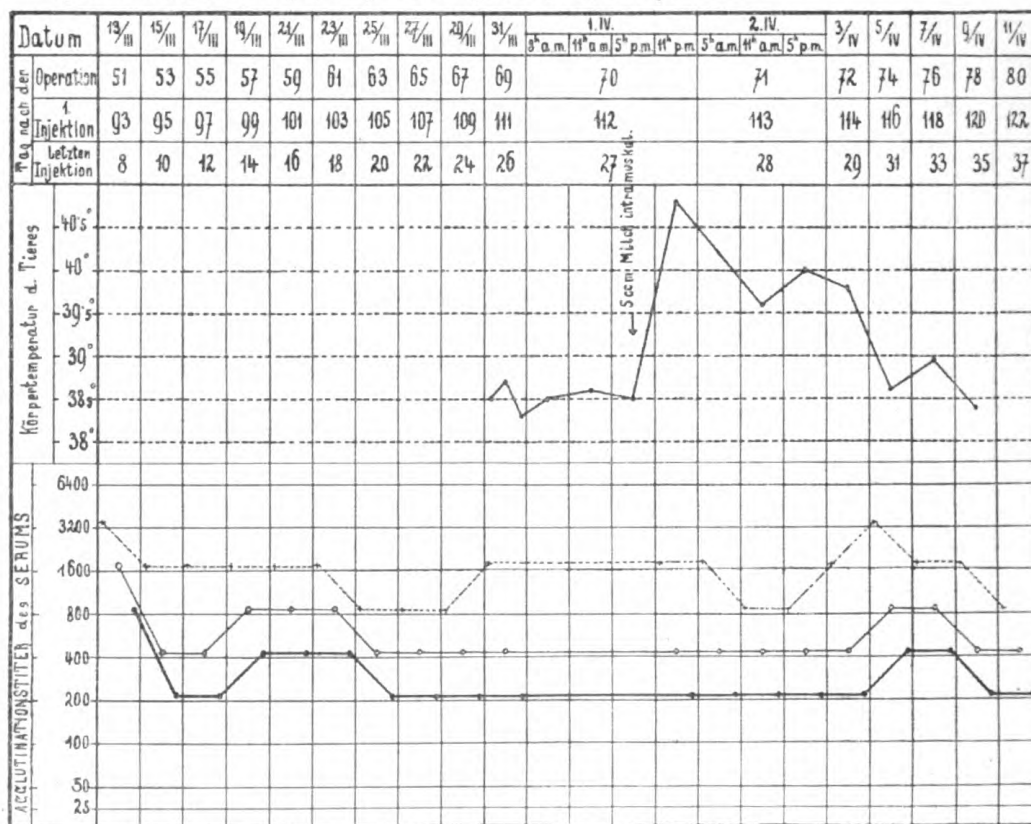
Die Injektion der Deuteroalbumose bewirkte eine ca. 4 Stunden später bereits einsetzende deutliche Temperatursteigerung von intermittierendem Charakter und relativ kurzer Dauer. In den der Injektion folgenden 36 Stunden wurde vierstündlich, dann später zweitägig das durch Aderlässe gewonnene Serum mit dem homologen Stamm agglutinatorisch ausgewertet. Wir konnten eine nennenswerte Steigerung des Agglutinationstiters nach der Deuteroalbumose-Reaktion nicht feststellen, denn die 16 Stunden nach der Injektion zu beobachtende geringe Erhöhung liegt innerhalb der Schwankungsgrenzen, wie wir sie bei immunisierten Tieren häufig wahrnehmen konnten. Dieser Versuch schien für die von Fleckseder gemachten Beobachtungen zu sprechen, da eben bei einem entmilzten Tiere eine Ausschwemmung der Agglutinine aus der Milz nach Injektion von pyrogenen Stoffen nicht auftreten konnte. Auf die bei solchen Tieren vikariierend agglutininproduzierenden Zellkomplexe schien das Fieber ohne Wirkung hinsichtlich einer Ausschwemmung zu sein.

Es war uns nun interessant, zu ermitteln, ob auch bei einer größeren Versuchsreihe unter Verwendung verschiedener pygener Stoffe dieselben Tatsachen zu konstatieren wären. Die Versuchsreihe III sollte uns in dieser Hinsicht Aufklärung bringen. Sie bestand aus 5 Kaninchen, von denen No. 58 der Versuchsreihe Ia wohl mit Typhusbacillen immunisiert, aber nicht entmilzt war, während wir bei den übrigen 4 Tieren (No. 16, 29, 41 und 53) vor 122 bzw. 70 Tagen die Splen-

ektomie vorgenommen hatten, worauf alle Tiere der Immunisierung mit Typhusbacillen durch mehrmalige Injektionen in gleicher Weise unterworfen worden waren. Alle Kaninchen hatten schon vor längerer Zeit (80 bzw. 27 Tage) die letzte Agglutinogeninjektion erhalten, wonach wir zweitägig den

Kaninchen № 29 [Typhus-Immunität], operiert am 22. I. 1920.

Injektionen: 2. II. 1920 $\frac{1}{10}$ Oese abget., 18. II. 1920 $\frac{1}{2}$ Oese abget., 5. III. 1920 $\frac{1}{2}$ Oese abget.



Kurve 5.

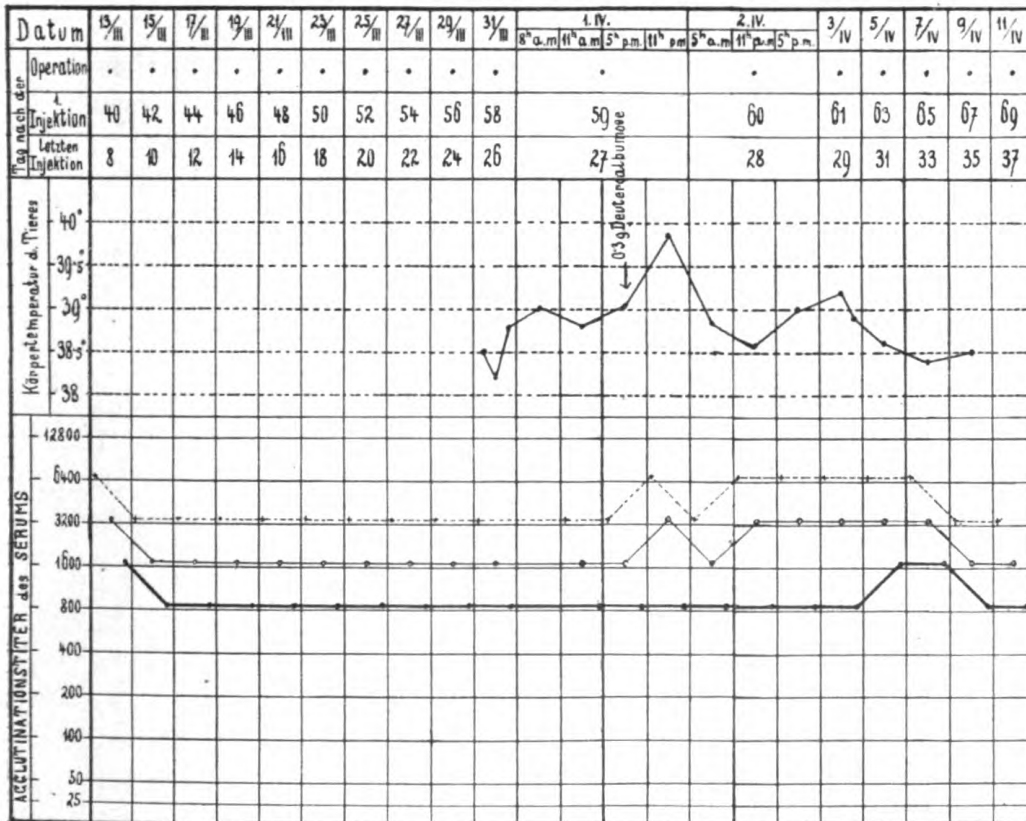
Agglutinintiter des Serums mit dem homologen Stamme bestimmten.

Von diesen Tieren erhielten No. 58 und 16 je 0,3 g Deuteroalbumose, gelöst in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung, Kaninchen No. 29 wurde mit 5 ccm steriler Milch injiziert, Kaninchen No. 41 verabreichten wir 2 Oesen einer 24-stündigen Staphylokokken-Schrägagarkultur, aufgeschwemmt in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und abgetötet durch $\frac{1}{2}$ Stunde bei 58°; eine ebenso vorbereitete Aufschwemmung von 2 Oesen

Choleraschragarkultur wurde dem Kaninchen No. 53 eingespritzt. Alle Injektionen erfolgten intramuskulär. Für die letzte erwähnte Behandlung des Kaninchens No. 53 war der Gedanke maßgebend, daß durch die Injektion der Cholerakultur wohl der Eintritt eines Temperatursturzes zu erwarten war, dessen Wirkung auf den Agglutiningehalt des Serums wir im Gegensatz zur Temperatursteigerung kennen lernen wollten.

Kaninchen № 58 [Typhus-Immuntier], nicht operiert.

3 Injektionen: 2. II. 1020 $\frac{1}{10}$ Dose abget., 4. II. 1020 $\frac{1}{2}$ Dose abget., 5. III. 1020 $\frac{1}{2}$ Dose abget.



Kurve 6.

Die Versuchsergebnisse sind zum Teil aus den vorstehenden Kurven 5 und 6 zu ersehen.

Es zeigt sich vor allem, daß die Injektion der Deuteroalbumose, der Milch und der abgetöteten Staphylokokken einen bald einsetzenden, meist sehr deutlichen Anstieg der Körpertemperatur bei allen Tieren zur Folge hatte. Bei keinem der entmilzten Tiere ließ sich eine Steigerung der agglutina-

torischen Seruntiters feststellen. Allerdings wies auch das nicht entmilzte Kontrolltier No. 58 keine deutliche Erhöhung desselben auf, trotzdem das Tier fieberte. Es war also zwischen entmilzten und milzführenden Tieren kein Unterschied festzustellen.

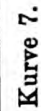
Interessant ist die Reaktion des Kaninchens No. 53 auf die Injektion der abgetöteten Cholerakultur. Wir sehen nach einem kurzen Temperaturanstieg, wenige Stunden nach der Injektion, einen sehr starken Abfall der Körperwärme, dem nach einer kurzen Rückkehr zur Norm eine neuerliche Senkung folgte, Verhältnisse, wie wir sie eigentlich erwartet haben. Ein ganz überraschendes Ergebnis brachte jedoch die Titrierung der agglutinatorischen Kraft des Serums gegenüber Typhusbacillen, insofern als ein beträchtlicher Anstieg der Agglutinine am 4. Tage nach der Injektion zu konstatieren war, dem allerdings ein baldiges Absinken derselben folgte. Wir werden auf diesen Versuch später an anderer Stelle noch zu sprechen kommen.

Um nachzusehen, ob nicht ein anderer Injektionsmodus der pyrogenen Stoffe ein von dem der Versuchsreihe III differentes Resultat liefert, stellten wir eine Versuchsreihe IV auf, welche ebenfalls 5 Kaninchen umfaßte, von denen 4 entmilzt worden waren, eines (No. 75) als Kontrolltier verblieb. Zwei dieser Kaninchen (No. 62 und 83) hatten bereits vor der Splenektomie eine Immunisierung mit Typhusbacillen durchgemacht, zwei andere (No. 28 und 47) erhielten die erste Typhusbacilleninjektion erst nach der Operation. Alle Tiere hatten sich schon längere Zeit als gute Agglutininbildner erwiesen, wie wiederholte Prüfungen ergeben hatten. Auch bei dieser Versuchsreihe verwendeten wir zur Aenderung der Körpertemperatur Deuteroalbumose, Milch, Staphylokokkenkultur und Cholerakultur, jedoch bei subkutaner Injektion. Als Beispiel verweisen wir auf die Kurve 7 (Kaninchen 62).

Es zeigt sich nun, daß konform der Versuchsreihe III auch die subkutane Injektion von Deuteroalbumose, Milch und abgetöteter Staphylokokkenkultur eine deutliche Temperatursteigerung zur Folge hat. Eine Veränderung des Agglutinin gehaltes im Serum entmilzter Tiere konnten wir aber auch hier nicht in dem Maße feststellen, daß daraus irgendwelche

Kaninchen № 62 [Typhus-Immunität], operiert am 1. XII. 1919.

Injektionen: $\frac{23}{X}$ 1910 $\frac{1}{60}$ Dese, $\frac{30}{X}$ 1910 $\frac{1}{20}$ Dese, $\frac{7}{N}$ 1910 $\frac{1}{40}$ Dese, $\frac{4}{ZM}$ 1910 $\frac{1}{40}$ Dese, $\frac{23}{T}$ 1920 $\frac{1}{2}$ Dese, $\frac{12}{Z}$ 1920 $\frac{1}{2}$ Dese, $\frac{24}{Y}$ 1920 $\frac{1}{2}$ Dese, $\frac{4}{H}$ 1920 $\frac{1}{2}$ Dese.



9*

ohne weitere äußere Einflüsse auftreten. Die in dieser Hinsicht von uns gemachten Erfahrungen stimmen mit den schon längst in dieser Frage niedergelegten Beobachtungen anderer Autoren völlig überein und sollen als Warnung dienen, aus geringgradigen Steigerungen oder Senkungen des Agglutiningehaltes irgendwelche weittragende Annahmen zu konstruieren.

Einer besonderen Erwähnung bedarf das Verhalten des Kaninchens No. 28, welches wir mit 2 Oesen abgetöteter Cholerakultur, diesmal jedoch subkutan, gespritzt hatten. Auch hier sehen wir, daß als unmittelbare Reaktion auf die Injektion eine Temperatursteigerung eintrat, daß aber eine solche nachfolgende Senkung der Körperwärme, wie sie bei Kaninchen No. 53 der vorigen Versuchsreihe wahrzunehmen war, nicht stattfand. Wir konnten hier wohl auch einen leichten Anstieg des Agglutinititers feststellen, doch war derselbe keineswegs so eindeutig wie beim Kaninchen No. 53.

Bei diesen beiden Kaninchen haben wir parallel mit der Auswertung des Serums auf Typhusagglutinine auch dessen Gehalt an neuentstandenen Choleraagglutininen geprüft, obwohl wir uns wenigstens für die ersten Aderlässe nicht viel davon versprochen, da ja die Infektion der Cholerakultur erst sehr kurze Zeit vorher erfolgt war.

Interessanterweise ließ sich nun bei Kaninchen No. 53, welches vor der intramuskulären Injektion der Cholerakultur keine Spur von Choleraagglutininen in seinem Serum führte, das Auftreten von solchen bereits 12 Stunden nach der Einverleibung der Choleravibrionen nachweisen, und zwar in einer solchen Menge, daß Serumverdünnungen von 1:200 noch komplette, 1:400 inkomplette und 1:800 Spuren von Agglutination zeigten. 36 Stunden nach der Injektion war der agglutinatorische Serumtiter gegenüber Choleravibrionen so weit gestiegen, daß Serumverdünnungen von 1:400 komplette, 1:800 inkomplette und 1:1600 spurenweise Ausflockung der Choleravibrionen veranlaßten. Nach weiteren 24 Stunden erfolgte wieder ein Absinken der Kurve, doch waren noch nach 8 Tagen deutliche Mengen von Choleraagglutininen im Serum des Tieres nachweisbar.

Anders verhielt sich das Kaninchen No. 28 der Versuchsreihe IV, welchem wir auch Cholerakulturen, aber subkutan injiziert hatten und das allerdings hinsichtlich der Temperaturreaktion und Agglutiningehaltes seines Serums gegenüber Typhusbacillen sich wesentlich vom Kaninchen No. 53 unterschied. Es war zwar auch bald nach der Injektion das Auftreten von Choleraagglutininen nachweisbar, aber in ganz geringen Mengen (Serumverdünnung 1:25 spurenweise), ohne daß eine Steigerung späterhin erfolgt wäre.

Wodurch diese immerhin merkwürdigen Erscheinungen bei den beiden genannten Kaninchen zu erklären sind, hoffen wir später noch mitteilen zu können.

Schließlich haben wir noch eine Versuchsreihe V zusammengestellt, welche 3 Kaninchen umfaßt, denen wir die pyrogenen Stoffe intravenös einverleibten. Wir wählten allerdings recht kleine Dosen derselben, um eine schwerere Schädigung der Versuchstiere hintanzuhalten. Es wurden zwei mit Typhusbacillen seit langer Zeit immunisierte Kaninchen gewählt, denen vor einer Reihe von Wochen die Milz exstirpiert worden war (No. 87 und 92), und ein Kontrolltier, welches ebenso wie die beiden anderen Typhusagglutinine in seinem Blute führte, jedoch seine Milz noch besaß (No. 109).

Das milzlose Kaninchen No. 87 erhielt 0,05 g Deuteroalbumose, in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, dem zweiten milzlosen Kaninchen No. 92 wurden 0,5 ccm steriler Milch, gemischt mit 1,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, in die Ohrvene injiziert, das milzführende Kaninchen No. 109 wurde ebenso behandelt wie Kaninchen No. 87.

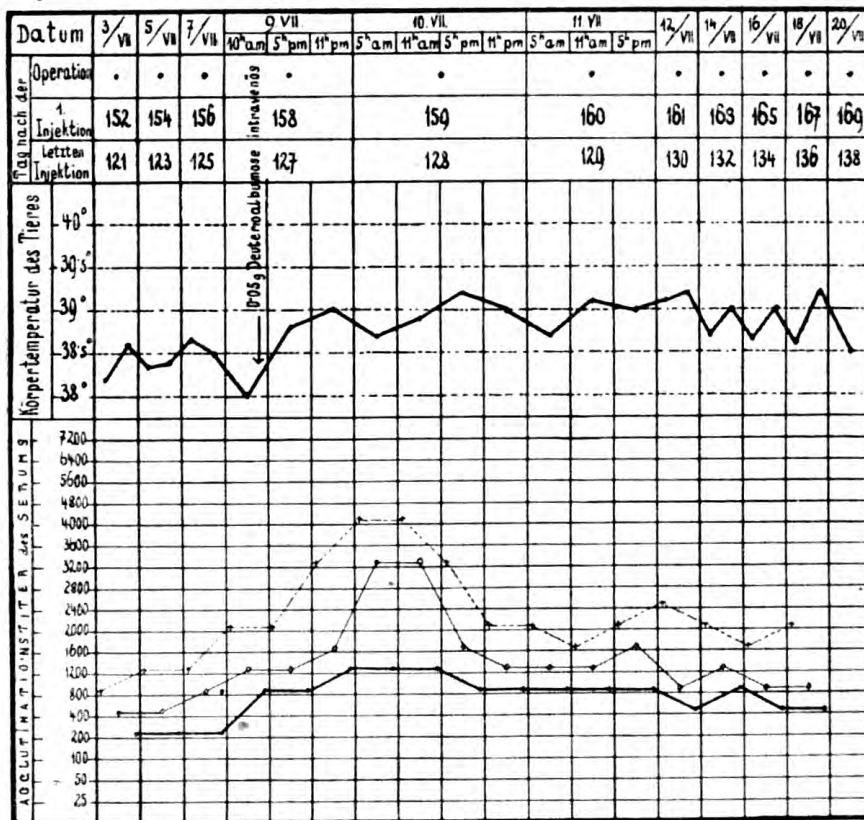
Die folgende Kurve 8 diene als Beispiel für den Ausgang dieses Versuches.

Es läßt sich hier ein auffallender Unterschied zwischen dem Agglutiningehalt des entmilzten und des normalen Kaninchens nach der Deuteroalbumoseinjektion nachweisen, wobei beide Tiere eine deutliche Temperaturerhöhung zeigen. Ersteres reagierte auf die Deuteroalbumose mit keiner Steigerung des Agglutiningehaltes, letzteres hingegen weist in seinem Serum eine recht wesentliche Vermehrung der Agglutinine auf (Weichhardt und Schader u. a.). Ebenso wie die Deuteroalbumoseinjektion wirkte bei einem entmilzten Kaninchen auch die Milchinjektion nicht im Sinne einer Erhöhung des agglutinatorischen Titers.

Dieses Versuchsergebnis stimmt mit den Angaben von Fleckseder beim Menschen nur insofern überein, als eben eine Agglutininausschwemmung beim milzführenden Tiere beobachtet werden kann, während sie bei splenektomierte Kaninchen fehlt. Nach unserer oben geäußerten Annahme über das vikariierende Einsetzen anderer Organe bei entmilzten Tieren müssen wir den Schluß ziehen, daß diese Zellkomplexe

Kaninchen Nr. 100 [Typhus-Immunität], nicht operiert

Injektionen: 2. II. 1920 $\frac{1}{10}$ Dose abget., 18. II. 1920 $\frac{1}{2}$ Dose abget., 5. III. 1920 $\frac{1}{2}$ Dose abget.



Kurve 8.

durch die Injektion pygener Stoffe nicht so gereizt werden, daß eine Agglutinausschwemmung in größerem Maßstabe erfolgt.

Zusammenfassung.

1) Die Splenektomie 10 Tage vor der Agglutinininjektion verursacht ein verzögertes Erscheinen der Agglutinine im Blutserum der Kaninchen gegenüber gleichartig injizierten Kontrolltieren.

2) Eine weitere Agglutinininjektion löst auch bei entmilzten Kaninchen die kräftige Bildung von Agglutininen aus,

die jetzt rascher einsetzt als bei den nicht splenektomierten Tieren.

3) Diese Beobachtungen gestatten den Schluß, daß der Milz eine nicht unwesentliche Rolle als Bildungsstätte der Agglutinine zukommt, daß aber diese Funktion vikariierend durch andere Organe quantitativ übernommen werden kann.

4) Die als Agglutininbildungsstätten für die fehlende Milz vikariierend tätigen Organe können diese Funktion durch lange Zeit ungeschmälert weiter versehen.

5) Die Splenektomie bei bereits immunisierten Tieren verursacht bisweilen eine plötzliche Abnahme des Agglutiningehaltes des Blutserums, welche wohl nicht allein als Shockwirkung durch die Operation zu betrachten sein dürfte.

6) Eine nennenswerte Steigerung des Agglutinititers infolge künstlicher Erhöhung der Körpertemperatur durch subkutane, intramuskuläre oder intravenöse Injektion pyrogener Stoffe (Deuteroalbumose, Milch, abgetötete Staphylokokken) konnte im Serum entmilzter Kaninchen nicht festgestellt werden. Ganz ähnlich verhielten sich jedoch bei den ersten beiden Injektionsarten auch Kaninchen, denen die Milz nicht exstirpiert worden war, während die intravenöse Injektion eine deutliche Steigerung des Agglutiningehaltes herbeiführte. Die Annahme Fleckseders von der Bedeutung der Milz als Agglutinin-speicherungsstätte erhält nur durch unsere Versuchsreihe V eine Stütze. Es bleibt noch festzustellen, warum bei den milzführenden Kaninchen gerade die intravenöse Injektion pyrogener Stoffe eine Wirkung zeigt, während sie bei der subkutanen und intramuskulären Einverleibung fehlt.

Literatur.

- Arloing, Sem. méd., 1897.
Bardach, Ann. Pasteur, 1889, 1891.
Benario, Deutsche med. Wochenschr., 1894.
Blumreich und Jacoby, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 29, 1898.
Brezina, Wiener klin. Wochenschr., 1905.
Carell and Ingebrigtsen, Journ. of exp. Med., Vol. 15, 1912.
Castellani, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 1901.

- Courmont et Duffeau, *Compt. rend. Soc. biol.*, 1896.
 — — *Sem. méd.*, 1897.
 — — *Arch. de méd. expér.*, 1898.
 Demel, *Riforma med.*, 1871.
 Deutsch, *Ann. Pasteur*, 1899.
 — *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 28, 1900.
 Dieudonné, *Med. Klinik*, 1906.
 Domeny, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1902.
 van Emden, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 30, 1899.
 Fleckseder, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1916.
 Foà e Scabia, *Gaz. med. di Torino*, 1893.
 McGowan, *Journ. of Pathol. and Bact.*, Vol. 15, 1911.
 Hektoen, *Journ. of infect. dis.*, Vol. 6, 1909; Vol. 17, 1915; Vol. 22, 1918; Vol. 27, 1920.
 Jakuschewitsch, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 47, 1904.
 Kanthak, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 12, 1892.
 Kraus et Schiffmann, *Ann. Pasteur*, T. 20, 1906.
 Kurlow, *Arch. f. Hyg.*, Bd. 9, 1889.
 Leukart and Becht, *Transact. of Chicago Path. Soc.*, Vol. 8, 1911.
 Martinotti und Bardacci, *Centralbl. f. allg. Pathol.*, Bd. 1, 1890.
 Melnikow-Raswedenkow, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 21, 1896.
 Montuori, *ref. Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 13, 1893.
 Pfeiffer und Marx, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 27, 1898.
 Rath, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 25, 1899.
 Schittenhelm und Weichhardt, *Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther.*, Bd. 11, 1912.
 Shibayama, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 30, 1901.
 Tarassewitsch, *Zur Lehre von den Hämolytinen*. Diss. Odessa, 1902.
 Tictin, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 15, 1894; Bd. 21, 1897.
 Tizzoni e Catani, *Riforma med.*, 1892, 1893.
 — — *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 11, 1892.
 — — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1894.
 Weichhardt, *Münch. med. Wochenschr.*, 1915, No. 45; 1918, No. 22.
 — und Schader, *Münch. med. Wochenschr.*, 1919, No. 11.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik Rostock (Direktor:
Prof. Dr. Frieböes).]

Untersuchungen über die Rolle der Albumine und Globuline in der serologischen Luesdiagnostik.

Von Dr. med. **Felke**,
Oberarzt der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Dezember 1920.)

Nathan ¹⁾ formuliert seine Ergebnisse mit künstlich positiv nach Wassermann umgewandelten Seren unter Verwertung der Anschauungen von H. Sachs folgendermaßen:

„Die besondere Serumqualität, die hierbei resultiert, ist aber thermolabil. Durch Veränderung der Lipoidzusammensetzung des Blutserums wird eine Thermostabilität der Globuline sowohl in bezug auf ihre Alterierbarkeit als auch in bezug auf ihre Fähigkeit, ihren veränderten physikalischen Zustand beizubehalten, erzielt, und so entsteht die für die Syphilis charakteristische Serum.“

Mit anderen Worten will das besagen: Während man bisher, auf den Befunden U. Friedemanns fußend, hauptsächlich in Globulinveränderungen die typischeluetische Serumstruktur suchte, muß man jetzt annehmen, daß auch noch andere Serumanteile am Zustandekommen der echten, thermostabilen Luesveränderung beteiligt sind. Es war daher naheliegend, im Verlaufe von a. a. O. veröffentlichten Untersuchungen, die erneut die Rolle der Globuline bei der artefiziellen, zur positiven Wassermannreaktion führenden Serumveränderung ergaben, die Rolle des globulinfreien Restes einer näheren Untersuchung zu unterwerfen.

Auf die Anschauungen U. Friedemanns muß ich kurz eingehen. Er kommt zu folgenden Ergebnissen: Globuline

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, p. 562 ff.

aus allen, positiven und negativen Seren wirken stark antikomplementär. Diese antikomplementäre Funktion kann durch Albuminfraktionen beliebiger Seren aufgehoben werden, wenn es sich um Globuline aus negativen Seren handelt, Globuline aus positiven Seren behalten auch nach Wiedervereinigung mit Albuminen ihre antikomplementäre Eigenschaft. Das Zustandekommen der Wassermannreaktion schien damit erklärt, wobei besonders bemerkenswert war, daß auch negative Globuline, wenn sie vor dem Mischen mit den Albuminen verdünnt wurden, positives Resultat ergaben. Es konnte also durch einfaches Trennen von Globulinen und Albuminen und Zusammenbringen unter besonderen Verhältnissen (Verdünnung) eine negative Wassermannreaktion in eine positive umgewandelt werden.

Durch diese Untersuchungen schien die Hauptrolle der Globuline an derluetischen Serumveränderung festgelegt. Da nun die damals bekannten Flockungsreaktionen, die entweder durch Zusatz von Lecithinemulsion (Porges und Meier) oder durch Verdünnen mit Wasser (Klausner) oder durch eine Lösung von Natriumglykocholat (Elias, Neubauer, Forges, Salomon) ausgeführt wurden, kein der Wassermannreaktion entsprechendes und damit nur für Lues charakteristisches Gepräge zeigten, obwohl sie sicherlich reine Globulinreaktionen darstellen, so war zunächst nur die Annahme berechtigt, daß dieluetischen Globulinveränderungen qualitativ etwas anderes darstellen, als solche bei anderen Erkrankungen und demgemäß imluetischen Falle nur durch die Komplementbindung nachgewiesen werden könnten. Welcher Art die spezifischluetische Veränderung aber sein könnte, blieb ungeklärt, wenn sich auch ergab, daß quantitative Verschiebungen zugunsten der Globuline nicht in Frage kommen konnten, überhaupt stellte sich als sicher heraus, daß Reaktionen, die sich lediglich auf den Nachweis labilerer Globuline stützten, kein für Lues charakteristisches Gepräge tragen können. Dazu gehören neben den oben erwähnten Flockungsreaktionen auch die Reaktionen von Bruck¹⁾, sowohl die „Salpetersäurereaktion“ wie die späteren Alkohol- und Milch-

1) Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 1, 35, 36.

säurefällungen. Hirschfeld und Klinger¹⁾ haben dies überzeugend dargelegt.

Das Bestreben, das hämolytische System und damit die Versuchstiere bei der Wassermannreaktion zu umgehen, wurde aber immer wieder lebhaft, und besonders als der Krieg in dieser Hinsicht die Schwierigkeiten erhöhte, wurden Versuche, die Wassermannreaktion zu vereinfachen und durch Flockungen zu ersetzen, wieder aufgenommen. Meinicke und Sachs und Georgi ist es zu verdanken, daß auch wirklich brauchbare Flockungsreaktionen gefunden wurden; und Meinicke's²⁾ besonderes Verdienst ist es, diese Frage experimentell gründlich beleuchtet zu haben. Er stützt sich bei Erklärung des Zustandekommens seiner Reaktionen auf die Wechselwirkung der Serumglobuline und der Extraktlipide mit besonderer Betonung der kolloidalen Grundlage dieser Wirkung.

Die Sachs-Georgische Reaktion schließt sich der Technik der Wassermannreaktion eng an, verläuft in 0,85-proz. NaCl-Lösung unter Anwendung cholesterinierter Rinderherz-extrakte in ähnlicher Verdünnung wie in der Wassermannreaktion, den positiven Ausfall durch Flocken kennzeichnend. Diese Flocken gelten allgemein zum mindesten als globulin-haltig, wenn nicht überhaupt als aus Globulinen bestehend. Daß dem nicht so sein braucht, hat Mandelbaum³⁾ vor kurzem gezeigt, als er aus nicht inaktivierten Seren durch Verdünnen mit Wasser und Durchleiten von CO₂ die Globuline ausfällte. Mit der wiederaufgesalzenen Albuminfraktion ließ sich nach seiner Angabe eine tadellose Sachs-Georgi-Reaktion erzielen; die wiedergelösten Globuline dagegen verhielten sich durchaus uncharakteristisch. Er erreichte also mit dem Entfernen der Globuline dasselbe wie durch Inaktivieren: nicht erhitzte Sera gaben schwache oder gar keine positiven Reaktionen, inaktivierte arbeiteten charakteristisch. Durch das Inaktivieren werden die Globuline stabilisiert, da einerseits eine stärkere Alkaleszenz des Serums eintritt, andererseits die Abbauprodukte, die die Globuline in Lösung halten, vermehrt werden.

1) Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 46.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, Heft 5; Bd. 29, Heft 4.

3) Münch. med. Wochenschr., 1920. No. 33.

Mandelbaum erörtert noch nicht die Vorstellungen, die er mit seinen Befunden verbindet, jedenfalls rücken sie aber die Bedeutung der Albuminfraktion für die Sachs-Georgi-Reaktion in ein neues Licht. Gloor und Klinger¹⁾ haben ebenfalls die Albuminfraktionen von Seren untersucht, die sie nach Sachs-Altmann durch Ausfällen mit $n/300$ HCl gewannen. Sie hatten das überraschende Ergebnis, daß Albumine positiver Seren meist eine positive Wassermannreaktion gaben, nur minder stark reagierende verloren ihre Reaktion. Dagegen hatten sie mit der Sachs-Georgi-Reaktion in der Albuminfraktion allein meist Mißerfolge, nur stark positive Seren flockten aus. Sie kommen zu dem Resultat, die von Friedemann begründete Anschauung, daß „die durch die Lues im Serum hervorgerufene Veränderung nicht die Albumine, sondern die Globuline betrefte“, bedürfe einer Modifizierung, insofern als „die bloß auf der Anwesenheit besonders labiler Globuline beruhende Gruppe positiv reagierender Seren von der echtenluetischen Serumveränderung abgetrennt werden müsse“.

Mit diesem Gedankengang nähern sich die genannten Autoren der Ansicht von Sachs und Nathan, insbesondere Sachs sieht die Globulinveränderungen als sekundär an, die spezifischluetische primäre Veränderung sucht er in dem Lipoidanteil der Seren.

Und während Hirschfeld und Klinger früher eine rein kolloidchemische Erklärung der Wassermannschen Reaktion vertraten, nehmen Gloor und Klinger nunmehr an, daß diese „durch die Anwesenheit von Teilchen bedingt ist, welche durch besondere chemische Affinitäten zu den Extrakttoberflächen ausgezeichnet sind“. Um diese Reaktion aber sichtbar zu machen, bedarf es für die meisten der üblichen Reaktionen der Anwesenheit labiler Eiweißteilchen“ (Globuline, Verf.). Die Gerinnungsreaktion auf Lues [Herzfeld und Klinger²⁾] kann ganz dieser Globuline entbehren, bei der Wassermannreaktion müssen wenigstens die Mittelstückglobuline des Komplements zugegen sein, bei den Ausflockungsreaktionen die Globuline des Serums selbst. Aber „aktive“ Globuline, z. B. aktives Meerschweinchenserum, hindert die Flockenbildung der Sachs-Georgi-Reaktion, wie Neukirch³⁾ festgestellt hat, inaktives dagegen ist ohne oder fast ohne diesen Einfluß. Also würden Gloor und Klinger besser

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, Heft 5.

2) Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 32.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, Heft 3/4.

„stabilisierte“ Globuline als notwendig für Ausflockungsreaktionen verlangen.

Nach dieser Auffassung Gloor's und Klinger's wären also die Globuline gänzlich unspezifisch, lediglich als Indikatoren bei dem größeren Teil der Luesreaktionen notwendig.

Auf Grund der bekannten Tatsachen (künstliche Umwandlung negativer Seren in positive) und der eigenen Erfahrungen mit der Einwirkung des Salvarsans auf Komplement und Wassermannsche Reaktion war ich ebenfalls zu einer ähnlichen Anschauung gekommen, war aber im Zweifel, ob man wirklich den Globulinen jede spezifische Aenderung im luetischen Serum absprechen dürfe. Auf jeden Fall schien es wichtig, die Reaktionsfähigkeit der Globuline und des von den Globulinen befreiten Serumrestes erneut zu untersuchen.

Ich wandte zur Entfernung der Globuline das von Sachs-Altman angegebene und auch von Gloor und Klinger benutzte Verfahren an, bei dem durch Verdünnen des Serums mit der 9-fachen Menge $n/300$ HCl die Globuline ausfallen und nach Zentrifugieren sich als weißer Bodensatz ergeben. Die überstehende klare Flüssigkeit wurde abgegossen und mit der nötigen Menge NaCl bis zur Isotonie versetzt.

Dem Neutralisieren stehen gewisse Bedenken entgegen, denn ein Teil der Essigsäure ist von den Globulinen, beziehungsweise den dieselben in Lösung haltenden Abbauprodukten verbraucht. Gloor und Klinger neutralisieren deshalb nur mit der Hälfte der der verwandten HCl entsprechenden Menge NaOH. Diesem Verfahren folgte ich ebenfalls, und es liefert anscheinend die am wenigsten alterierte „Albuminfraktion“. Die Technik des Aufsalzens und Neutralisierens wurde so gehandhabt, daß zu je 10 ccm Albuminfraktion 1 ccm einer Lösung von 9,0 NaCl in 100 ccm $n/60$ NaOH pipettiert wurde.

Aus je 10 Wassermannreaktion-positiven und -negativen Seren wurden nun die Globuline ausgefällt und dann mit der gewonnenen Albuminfraktion (aufgesalzen) in Menge von je 1,5 ccm durch Zugabe von 0,5 ccm Sachs-Georgi-Extrakt die Sachs-Georgi-Reaktion angesetzt.

Nach 24-stündigem Brutschrankaufenthalt zeigte ein Teil der positiven Seren Flöckchen, der Versuch blieb dann weitere 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, und nunmehr zeigten

alle 10 positiven Seren Flockungen von + bis +++, zum Teil recht kräftiger Art, die negativen waren alle klar.

Gloor und Klinger erhielten nur ausnahmsweise bei stark positiven Seren mit dieser Versuchsanordnung Flocken, weswegen sie ja auch die Globuline gewissermaßen als „Indikator“ bei den Flockungsreaktionen nicht entbehren wollen.

Mandelbaum erhielt in seinem durch CO₂ und Verdünnen globulinfrei gemachten Seren stets gute Sachs-Georgi-Reaktionen. Also wären zum Entstehen von Flocken in dem Gemisch Serum-Extraktverdünnung gar keine Globuline nötig, welcher Ansicht ich mich anschließen muß. Daß die Labilität der Globuline die Sachs-Georgi-Reaktion nicht verstärkt, geht schon aus dem geringen Flockungsvermögen aktiver Seren hervor, in denen die Globuline doch labiler sind, ferner daraus, daß Zusatz von aktivem Meerschweinchenserum die Flockung verhindert.

Die erhitzten Globuline könnten nun aber doch die Flockung begünstigen; experimentell gelang mir dieser Nachweis zwar nicht, denn wenn man aus irgendwelchen Seren ausgefällte Globuline in physiologischer Kochsalzlösung löst, den Albuminfraktionen so viel der Lösung zusetzt, daß der ursprüngliche Globulingehalt wiederhergestellt ist, und dann inaktiviert, so tritt die Sachs-Georgi-Reaktion schwächer auf als in den entsprechenden Albuminfraktionen. Demnach würden in diesem Falle die Globuline sogar hemmend auf die Flockenbildung wirken, da die Albuminfraktion auch nach Erhitzen die Sachs-Georgi-Reaktion ungeschwächt gibt. Doch möchte ich dem Versuch keine große Beweiskraft zusprechen, da mit dem Fällen und Wiederlösen der Globuline feinere Strukturveränderungen einhergehen, die zwar die Globuline für robustere Reaktionen wie Hämolyse, Wassermannreaktion nicht schädigen, die diffizileren Flockungsreaktionen aber stören. Bei diesen muß alles auf ein Optimum der inneren Reibung abgestimmt sein, damit es auch wirklich (nach meiner Auffassung auf Grund der chemischen Reaktion zwischen Luesreagin und Extrakt) zu Flocken kommt. Es wurden nun 6 Serumfraktionen, wie oben beschrieben, hergestellt und einzeln, nicht erhitzt und $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt, der Wassermannreaktion und Sachs-Georgi-Reaktion unterworfen.

Versuch.

No. des Serums	2998	3000	3010	2999	3006	3008	
Wassermann	—	—	—	—	++++	++++	
Stern	—	—	—	+++	++++	++++	
Sachs-Georgi	—	—	—	—	++	+++	
[A.-E.-R. ¹⁾	—	—	—	++++	++++	++++	]
Alb. nicht erhitzt	—	—	—	+	+++	+++	} Sachs-Georgi mit d. einzeln. Fraktionen
Glob. nicht erhitzt	—	—	—	—	±	—	
Albumine erhitzt	—	—	—	+	+++	+++	
Globuline erhitzt	—	—	—	—	++	±	
Alb. nicht erhitzt	—	—	—	++++	++++	++++	} Wassermann- reaktion mit den einzelnen Fraktionen
Glob. nicht erhitzt	—	—	—	+++	++++	++++	
Albumine erhitzt	—	—	—	—	++++	++++	
Globuline erhitzt	—	—	—	+	++++	+	

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Albuminfraktionen positiver Seren, erhitzt und nicht erhitzt, die Sachs-Georgi-Reaktion geben. Ein nur in der Sternschen Modifikation positives (No. 2999) gab sogar mit der Albuminfraktion eine Ausflockung, die im Vollserum ausblieb.

Die Globuline verhalten sich erhitzt, und nicht erhitzt, durchaus passiv, d. h. in der Anordnung der Sachs-Georgi-Reaktion kommt keine Flockung zustande.

Bemerkenswert im Gegensatz hierzu ist das Verhalten der getrennten Fraktionen in der Wassermannreaktion. Aus negativen Seren reagieren beide, richtige Dosierung des Antigens vorausgesetzt, negativ. Man muß bei Untersuchung der Globuline mit der Antigendosis heruntergehen, weil Globuline eben an und für sich komplementwidrig wirken. Aus positiven Seren hergestellte Globulin- und Albuminfraktion binden mit Antigen Komplement, enthalten also beide spezifische Reagine; beim Erhitzen läßt diese Fähigkeit der Globuline manchmal nach, die der Albumine bleibt meist erhalten. Und besonders hervorzuheben ist Serum 2999, das als Vollserum im Originalwassermann, also inaktiv negativ reagiert, dagegen im aktiven Sternschen Versuch fast komplett positiv war. Die nicht erhitzten getrennten Fraktionen reagieren positiv, die erhitzten negativ.

Der Unterschied, der sich häufig zwischen Stern- und Wassermannreaktion in der Reaktionsstärke zugunsten der

1) A.-E.-R. = Albuminendstückreaktion; siehe später.

ersten Reaktion ergab, wurde bisher stets auf eine besondere Labilität der Globuline des aktiven Serums zurückgeführt. Obiger Versuch ergibt aber, daß auch die Albuminfraktion durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen auf 55° abgeschwächt wird, und bei ihr kann man mit Gloor und Klinger nicht von besonderer Labilität sprechen, vielmehr muß man chemische Affinitäten zum Extrakt in ihrer Auswirkung auf die Globuline (in diesem Falle des Meerschweinchenserums, Komplementmittelstücks) als Ursache der Reaktion annehmen. Damit wäre die Frage nach einem wirklichen Luesreagin als selbständigem Stoff wieder nahegerückt, der beim Ausfallen der Globuline von diesen adsorbiert werden könnte. Breinl¹⁾ führte neuerdings Versuche an, die zeigen, daß Organemulsion aus positiven Seren die Luesreagine adsorbieren und wieder abgeben kann, und ebenso vertritt er die Ansicht, daß diese nur mechanisch von den Serumglobulinen mitgerissen werden. Die Albuminfraktion hat er nicht untersucht. Hervorzuheben ist, daß mit Schwinden der Wassermannschen Reaktion infolge Behandlung mit Organemulsionen auch die Sachs-Georgische Reaktion aufhörte.

Orientierende Versuche zeigten, daß auch die zweizeitige Kochsalzmethode nach Meinicke mit der Albuminfraktion allein möglich ist. Setzt man zu 2 ccm der nicht aufgesalzenen Albuminfraktion beliebiger Seren Rinderherzextrakt, der mit der Hälfte Wasser eine Stunde lang „aufgeschlossen“ ist, in Menge von 0,3 ccm, so flocken positive und negative Seren primär kräftig aus. Und wie bei Verwendung von Vollseren sind die luetischen Flocken kochsalzresistenter als die normalen. Die Rolle der Globuline bei den Ausflockungsreaktionen ist also sicher unspezifisch, ich nehme an, daß sie lediglich die Viskosität des Mediums für Flockenbildung günstiger gestalten, so daß bei ihrer Gegenwart die Flocken kräftiger werden. Es gelingt unzweifelhaft, durch anderes Einstellen der Extrakte diese Globulinwirkung zu ersetzen und mit der Albuminfraktion allein dieselben Ausflockungen zu erzielen wie mit Vollserum. Die Rolle der Globuline bei den Wassermannschen Reaktionen schienen nach meinen Versuchen im Gegensatz zu den Ausflockungen

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, Heft 5.

nicht so passiver Natur zu sein, besonders da bei ihr ja stets Komplementglobuline zugegen sind.

Ferrata¹⁾ (unter Morgenroth) hat zuerst gezeigt, daß die Komplementfunktion zerlegt werden kann: Dialysiert man frisches, also komplementhaltiges Meerschweinchenserum gegen H_2O , so fallen mit zunehmendem Salzverlust die Globuline aus, und man kann so Globuline und Albuminfraction annähernd quantitativ trennen. Rascher gelingt dies nach Sachs-Altmann durch 10-faches Verdünnen des Serums mit $n/300$ Salzsäure. Bei diesem Verfahren lassen sich die Globuline schnell abzentrifugieren und erneut in physiologischer Kochsalzlösung auflösen. Salzt man nun die verdünnte Albuminfraction auf 0,85 Proz. NaCl-Gehalt auf und prüft sie auf Komplementgehalt, so werden mit Ambozeptor beladene (sensibilisierte) Erythrozyten nicht oder nur spurweise gelöst: Komplement fehlt. Ebenso verhalten sich die in NaCl wiedergelösten Globuline. Durch Mischen der beiden Fraktionen wird die Komplementwirkung aber wiederhergestellt, vorausgesetzt, daß diese Mischung frisch erfolgt. Haben die Globuline länger in NaCl gestanden, so ergänzen sie die Albumine nicht mehr zu Komplement (Brandsche Modifikation). Wohl aber haben solche Globuline noch die Eigenschaft, sich an sensibilisierte Erythrozyten niederzuschlagen, dieselben zu „persensibilisieren“ und damit für die Albuminfraction empfindlich zu machen. Bei Zusatz von dieser tritt wiederum Hämolyse ein. Damit war die Reihenfolge der Komplementwirkung festgelegt und auf Grund davon die Nomenklatur gewählt: die Globuline, die sich an die sensibilisierten Erythrozyten zunächst anlegen, bilden das „Mittelstück“, die Albumine, die endlich die Hämolyse hervorrufen, das „Endstück“ des Komplements.

Die sogenannte dritte Komponente (Ritz) soll außer acht gelassen werden, da sie bei den folgenden Versuchen nicht in Erscheinung trat.

Ueber die Anteilnahme der Komplementbestandteile bei der Wassermannreaktion liegen Untersuchungen von Michaelis und Skwirsky²⁾ vor. Diese Autoren stellten fest, daß in einem Medium, das durch Ueberschuß sekundärer Phosphate über primäre eine saure Reaktion hat, bei Verwendung massig, 50-fach, mit Ambozeptor beladener Blutkörperchen die Komplementhämolyse zwar ausbleibt, daß die sensibilisierten Erythrozyten aber das Mittelstück des Komplements binden, also persensibilisiert werden. Mit dem auf diesem Wege gewonnenen persensibilisierten Blut prüften die genannten Autoren die Flüssigkeit, die von dem Bodensatz der Blutkörperchen in positiv reagierenden Wassermannreaktionen abgegossen wurde. Und diese Flüssigkeit erwies sich als endstückhaltig, die persensibilisierten Blutkörperchen wurden hämolysiert. Bei der positiven Wassermannschen Reaktion werden also die Mittelstückglobuline absorbiert, das Endstück bleibt frei.

1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) Michaelis und Skwirsky, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 4.
Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, p. 538.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.

Wenn man diesen Versuch mit auf anderem Wege persensibilisiertem Blut wiederholt, so findet man dieses Ergebnis durchweg bestätigt. Ich habe mit 3,5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung gearbeitet, die mit der gleichen Menge Ambozeptorlösung in 6-fach lösender Dosis sensibilisiert war.

Die Persensibilisation erfolgte mit frisch gefällten Meeresschweinchen- oder Menschoglobulinen aus aktiven Seren (nach Sachs-Altman), die in der dem verwandten Serum entsprechenden Menge physiologischer NaCl-Lösung wieder gelöst waren. Auf 10 ccm sensibilisiertes Blut kamen 0,75 ccm der Globulinlösung. 1 ccm Albuminfraktion aus Menschen- oder Meerschweinchenserum = 0,1 Serum lösen 1 ccm dieses persensibilisierten Blutes in etwa 10 Minuten.

Prüft man den Abguß positiver Wassermannscher Reaktionen mit so hergestelltem „Endstückreagens“, so findet man in Uebereinstimmung mit Michaelis und Skwirsky, daß er meist, aber nicht immer Endstück enthält. Einige Seren enthalten mehr, andere weniger, es ist aber schwer zu entscheiden, ob es sich hier um eine Schädigung des Endstücks durch Aufbewahren oder die verschiedenen Einflüsse während der Reaktion handelt, oder ob eine spezifische Absorption vorliegt.

Anders dagegen verhält sich der Abguß, den man aus Röhrchen mit einer positiven Sternschen Modifikation erhält. Hier fehlt das Endstück stets. Das ist ein Unterschied in dem Reaktionsverlauf zwischen Reaktionen und aktivem und inaktivem Serum, auf den bisher noch nicht aufmerksam gemacht ist. Wenn also zum Originalwassermann mit inaktiviertem Serum Mittelstückglobuline von nöten sind, so sind diese offenbar entbehrlich bei Arbeiten mit aktivem Serum. Und da man andererseits den Globulinen der aktiven Menschenserum mit Recht den Vorwurf zu großer Labilität und Beeinflußbarkeit durch unspezifische Einwirkungen zuschreibt, lag es nahe, die Globuline ganz aus dem Versuch auszuschalten und die in der Albuminfraktion enthaltenen Reaktionskörper zum Luesnachweis zu benutzen.

Gloor und Klinger geben an, daß die Verwendung der Albuminfraktion allein zur Gerinnungsreaktion auf Lues einen Vorteil bedeute.

Mit den Globulinen wird der Thrombingehalt der zu untersuchenden Seren entfernt, so daß die Kontrollen weniger häufig Gerinnung zeigen. Trotzdem habe ich noch häufig Gerinnung in diesen gesehen, da Zytzyme offenbar doch in der Albuminfraktion zurückbleiben. Die Reaktion wurde deshalb nach einigen Versuchsreihen wieder verlassen.

Die Gerinnungsreaktion beruht bekanntlich auf der Beobachtung, daß alkoholische Organextrakte, insbesondere Meer-schweinchenherzextrakte, ihren Zytzymcharakter unter Einwirkung luetischer Seren verlieren und dann nicht mehr in der Lage sind, mit zugefügtem Serozym und Calcium Thrombin zu bilden. Der Nachweis des Thrombins erfolgt durch Oxalatplasma: in negativen Röhrchen erfolgt Thrombinbildung = Gerinnung, in positiven bleibt beides aus.

Bei dieser Reaktion tritt durch gegenseitige Einwirkung von Extraktlipoiden und Luesreaginen eine Modifikation der ersteren ein, die nicht an Gegenwart von Globulinen gebunden ist; daß aber auch die Albuminfraktion durch Extraktlipoiden trotz ihrer kolloiden Stabilität verändert wird, konnte ich durch entsprechende Versuchsanordnung zeigen.

Aus nicht erhitzten Seren gewonnene Albuminfraktion hat Endstückfunktion, sie löst persensibilisierte Blutkörperchen. Digeriert man nun Albuminfraktionen positiver und negativer Seren mit Luesextrakten, so ergibt sich die überraschende Tatsache, daß die luetischen Albuminfraktionen ihren Endstückcharakter einbüßen, die normalen ihn behalten. Damit war die Möglichkeit gegeben, die Globuline auch bei einer Reaktion auszuschalten, die mit dem Indikator des hämolytischen Systems arbeitet, denn die wichtige Phase des Hauptversuchs, die Bindung zwischen Luesreaginen und Extrakt, verläuft globulinfrei; die Globuline spielen lediglich eine den Amboceptor ergänzende Rolle.

Eine durchaus ähnliche Reaktion kann man mit den Globulinen der entsprechenden Seren erzielen. Deren Lösungen verlieren durch Behandlung mit Wassermannreaktion-Antigenen ihre Fähigkeit, zu persensibilisieren, falls sie aus luetischen Seren stammen, behalten sie aber als normale Globuline.

Je 1 ccm positiver und negativer Seren in aktivem Zustand wird in weite Zentrifugengläser gefüllt und 9 ccm $n/300$ HCl hinzugegeben. Nach einer Stunde werden die reichlich ausgefallenen Globuline abzentrifugiert,

die Flüssigkeit abgegossen und je 1 ccm einer Lösung von 9,0 NaCl in 100 ccm n/60 NaOH hinzugegeben. Der Bodensatz der Globuline wird durch Ausschwenken und Austupfen mit Fließpapier möglichst von Flüssigkeit getrennt und dann in 1 ccm 0,85-proz. NaCl gelöst. Zwei Reihen Reagenzgläser werden mit je 1,5 ccm Albuminfraktion beschickt, zur ersten Reihe 0,5 cholesterinierter Rinderherzextrakt, 1:6 mit NaCl verdünnt, hinzugefügt, zur zweiten 0,5 ccm Kochsalzlösung (Kontrollen). Zwei weitere Reihen von Röhrchen werden mit je 0,15 ccm Globulinlösung beschickt, bis 1,5 mit NaCl aufgefüllt und zu einer Reihe 0,5 desselben Extraktes, 1:8 verdünnt, gegeben, zur zweiten 0,5 NaCl.

Sämtliche Röhrchen kommen eine Stunde in den Brutschrank, dann wird zu den die Albumine enthaltenden Reihen 1,0 persensibilisiertes Blut pipettiert, zu den Globulinen 1,0 sensibilisiertes Blut derselben Konzentration. Nach weiteren 15 Minuten Brutschrank kommt zu den Globulinreihen 1,0 auf Endstückgehalt geprüfte, aus normalem Serum stammende Albuminfraktion. Das Ergebnis zeigt nachstehende Tabelle:

Versuch.

Serum No.	Albumin + Extrakt	Albumin + NaCl	Glob. + Ext.	Glob. + NaCl	WaR. mit Vollserum
	nach 1 Std. persens. Blut	nach 1 Std. persens. Blut	nach 1 Std. sensibil. Blut	nach 15 Min. Endstück	
4379	+++	—	++++	—	positiv
80	++++	—	++++	++	„
81	++	—	++++	—	„
83	+++	—	++++	—	„
85	+++	—	++++	—	„
89	—	—	+	—	negativ
90	—	—	+	—	„
91	—	—	—	+	„
92	—	—	++++	+++	„
96	—	—	+	—	„

Die Albuminfraktionen wurden zugleich mit sensibilisiertem Blut auf Komplementgehalt geprüft: Es trat nirgends Hämolyse ein¹⁾.

Der Versuch zeigt, daß durch Behandeln mit Extrakten positive Albumine ihre Endstückfunktion, positive Globuline ihre Mittelstückfunktion verlieren. Globuline sind labiler, aus diesem Grunde neigen sie zu spontanen Veränderungen und dürfen, wie schon betont, nur mit geringen Extraktdosen behandelt werden, um die Spezifität zu erhalten.

1) Bei Menschenserum scheint anders als beim Meerschweinchen-serum die Trennung in Mittelstück und Endstück schärfer einzutreten, nur hin und wieder zeigte eine Albuminfraktion eine Spur komplettierende Wirkung, also spurweise Hämolyse.

Dies ist bekannt von der Sternschen Modifikation, die ja nur mit $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ der im Wassermann notwendigen Extrakt-dosen arbeitet. Die Prüfung der Albumine allein verlangt dieselben Dosen wie die Wassermannsche Reaktion.

Das Verhalten der einzelnen Fraktionen nach Erwärmen auf 56° ist durchaus analog dem inaktivierten Vollserum. Albuminfraktionen und wiedergelöste Globuline aus einigen positiven und negativen Seren werden $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt und dann zur Wassermannschen Reaktion benutzt. Zugleich wird ihre Fähigkeit, isoliertes Endstück mit Extrakt zu binden, geprüft.

Das Blut wurde 5-fach sensibilisiert und mit Meer-schweinchenglobulinen persensibilisiert, ebenso wurde Meer-schweinchenendstück verwandt.

Versuch.

Serum No.	Globulin 0,1 NaCl 0,4 Komplement 0,5		Globulin 0,1 NaCl 0,4 Endstück 0,5		Albumin 1,5 Komplement 0,5		Albumin 1,5 Endstück 0,5	
	Extrakt 0,5	NaCl 0,5	Extr. 0,5	NaCl 0,5	Extrakt 0,5	NaCl 0,5	Extr. 0,5	NaCl 0,5
WaR. {3047 positiv { 56	++++	—	—	—	++++	—	+	—
WaR. {3051 negativ { 54	—	—	—	—	—	—	—	—
	nach Zugabe sensibilis. Blutes		nach Zugabe persens. Blutes		nach Zugabe sensibilis. Blutes		nach Zugabe persens. Blutes	

Die isolierten und erhitzten Fraktionen aus Luesserum haben also mit Antigen zwar Komplement gebunden, aber isoliertes Endstück freigelassen. Der Komplementschwund ist an Mittelstückabsorption gebunden. Wenn also oben angeführt wurde, daß in den Abgüssen positiver Sternscher Modifikationen kein Endstück gefunden wurde, wohl aber in denen positiver Wassermannscher Reaktionen, so wird dieser Befund durch die letzten Versuche tatsächlich in dem angenommenen Sinne bestätigt: Nicht die Labilität der Globuline allein unterscheidet die aktive Wassermannsche Reaktion, insbesondere die Sternsche Modifikation von den inaktiven Methoden, es tritt vielmehr eine ganz andere Komplementbindung auf: die Wassermannsche Reaktion greift an dem Komplementmittelstück an, das positive aktive

Serum aber büßt mit Extrakt sowohl seinen Mittel- wie Endstückcharakter ein.

Der vorletzte Versuch zeigte die Möglichkeit zweier Reaktionen: einer Globulinmittelstückreaktion und einer Albuminendstückreaktion. Beide sind dadurch ausgezeichnet, daß sie mit dem Indikator der Hämolyse arbeiten, ohne daß im Hauptversuch Vollkomplement zugegen wäre. Aus dem Versuch ging aber schon die Schwierigkeit der Globulinmittelstückreaktion hervor; der Extrakt muß sehr vorsichtig dosiert werden, Eigenhemmungen sind häufiger, und die Globulinschädigungen, die unspezifische Reaktionen hervorrufen können, sind nicht ausgeschaltet.

Deswegen habe ich mein Augenmerk auf die Albumin-Endstückreaktion gerichtet und eine Reihe Seren vergleichsweise mit dieser Reaktion, nach Wassermann und nach Stern, untersucht. [Die Technik dieser Albuminendstückreaktion ist inzwischen a. a. O.¹⁾ veröffentlicht.]

Die Anwendung von Menschenglobulinen zur Persensibilisation des Hammelblutambozeptorgemisches hat sich durchaus bewährt, und durch Versuche wurde festgestellt, daß es gleichgültig ist, ob man Globuline aus Wassermann-positiven oder -negativen Seren verwendet. In folgender Tabelle ist eine Versuchsanordnung wiedergegeben, bei der nach Digestion von je 1,5 ccm der zu untersuchenden Albuminfraktionen mit 0,5 ccm Extrakt (und mit 0,5 ccm NaCl als Kontrolle) 1 ccm 3-proz. 6-fach sensibilisiertes Hammelblut zugefügt wurde, dessen Persensibilisation einmal mit Globulinen aus Luetiker-serum, einmal aus Normalseren erfolgte.

		Persensibilisiert mit			
		Plus-Globulinen		Minus-Globulin.	
		mit Extrakt	ohne Extrakt	mit Extrakt	ohne Extrakt
1	WaR. und Stern + + + +	+	+	+	+
2	WaR. + + + +, Stern Kontr.-Hemmung	+	+	+	+
3	WaR. + +, Stern + + + +	+	+	+	+
4	WaR. und Stern negativ	—	—	—	—
5	" " " "	—	—	—	—
6	" " " "	—	—	—	—

1) Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 45.

Der Ausfall ist beidesmal derselbe, Wassermann-positive Seren sind auch bei der Albuminendstückreaktion gehemmt, negative durchgelöst. Serum 2 zeigt zugleich, daß bei der Sternschen Modifikation Kontrollenhemmung bestehen kann, ohne daß dem betreffenden Serum Endstück fehlt. Nur das Mittelstück war zugrunde gegangen, womit die Komplementfunktion aufhörte, in der Albuminendstückreaktion durch die Persensibilisation aber wieder ergänzt wurde.

Bisher habe ich 527 Seren mit der Albuminendstückreaktion untersucht. Die angewandte Methodik schließt sich an die auf p. 146 geschilderte eng an, die Seren kamen ohne Auswahl zur Verwendung, wurden aktiv mit $n/300$ HCl in 9-facher Menge ausgefällt, scharf zentrifugiert, abgegossen, aufgesalzen, $\frac{1}{2}$ neutralisiert und in Menge von 1,5 ccm der Albuminfraktion mit 0,5 Extrakt und 0,5 NaCl als Kontrolle eine Stunde bei 38° gehalten. Der Extrakt entsprach dem zu gleicher Zeit in der Wassermannreaktion verwandten, 6-fach verdünnten cholesterinierten Rinderherzextrakt.

Inzwischen wurden die den Globulinbodensatz enthaltenden Röhrchen ausgeschwenkt und mit 1 ccm NaCl, entsprechend dem verwandten Serum, beschickt. Die Auflösung der Globuline geht rasch vor sich. Eine Mischung dieser Globulinlösung wird dem sensibilisierten Blut zugesetzt in folgendem Verhältnis: 3-proz. Hammelblutaufschwemmung 10 Teile, 6—8-fache Ambozeptorlösung 10 Teile, Globulinlösung 1,5 Teile, letztere $\frac{1}{2}$ Stunde nach Mischen von Ambozeptor und Blut, und $\frac{1}{2}$ Stunde vor dem Zugeben zur Reaktion.

Die Lösung geht ziemlich rasch vor sich, das Resultat wird am anderen Morgen nach Eisschranksaufbewahrung abgelesen. Komplette und fast komplette Hemmung gelten als positiv.

Folgende Zusammenstellung gibt Auskunft über das Ergebnis:

AER. positiv, WaR. positiv	123	=	23,3	Proz.	
AER. positiv, WaR. negativ	47	=	8,8	„	
AER. negativ, WaR. negativ	334	=	63,2	„	
AER. negativ, WaR. positiv	6	=	1,1	„	WaR. positiv 7
AER. Kontrollenhemmung	14	=	2,8	„	WaR. negativ 5
					WaR. Kontr.-Hemmung 3
AER. pos., WaR. Kontr. gehemmt	2	=	0,5	„	
AER. neg., WaR. Kontr. gehemmt	1	=	0,3	„	

Die Albuminendstückreaktion war also in 8,8 Proz. der Fälle positiv, wo die Wassermannreaktion negativ war; in allen Fällen handelte es sich um eine Lues, die entweder behandelt oder latent war, unspezifische Reaktionen wurden nicht beobachtet. Nur in der Hälfte der Fälle war die Sternsche Modifikation ebenfalls positiv, mit dieser wurden aber noch weitere 10 Luesfälle aufgedeckt, die mit der Wassermannreaktion und Albuminendstückreaktion negativ reagierten. Die drei Reaktionen scheinen sich also gut zu ergänzen.

Ob nun in dem einen Falle die Globuline spezifisch stärker verändert sind — Wassermannreaktion und Stern positiv — in dem anderen Falle die Albumine — Stern und Albuminendstückreaktion positiv — entscheide ich nicht. Ich nehme vielmehr an, daß das Luesreagin in dem Serum als stabiler Körper gelöst ist und von den Globulinen nur adsorbiert wird. Das würde auch für den Lipoidcharakter des Reagins sprechen, da die Globuline einen Teil der Lipide bei ihrem Ausfalle mitreißen.

Durch die angeführten Untersuchungen ist die Konstanz der spezifischen Veränderungen auch der einzelnen Serumfraktionen nachgewiesen. Insbesondere geht aus ihnen hervor, daß es nicht, wie bisher angenommen, die Globuline allein sind, die die Luesreaktionen geben. Ihre Rolle bei den modernen Ausflockungsreaktionen dürfte sogar unspezifischen Charakter tragen, wie dies Gloor und Klinger schon hervorheben. Der Kern der spezifischen Serumveränderung ist in den stabilen Serumbestandteilen zu suchen, der Albuminfraktion, die auch den größten Anteil der Lipide enthält. Da die Globuline bei ihrer Ausfällung wechselnde Mengen dieser Substanzen mitreißen, spräche die Möglichkeit, mit ihnen eine Komplementbindung und eine „Globulinmittelstückreaktion“ anzustellen, nicht gegen diese, auch von H. Sachs vertretene Annahme, daß die primäre syphilitische Serumveränderung die Lipoidsubstanzen betrifft.

Zusammenfassung.

In Bestätigung der Arbeiten Mandelbaums sowie Gloor und Klingers können mit den Albuminfraktionen von Luesseren Ausflockungen nach Sachs-Georgi erzielt

werden. Weiter ergibt sich, daß bei der Reaktion zwischen Wassermannextrakt und aktivem Luesserum nicht nur das Komplementmittelstück, sondern auch das Endstück verschwindet. Dementsprechend gelingt es, mit den getrennten Albumin- und Globulinfraktionen Reaktionen zu erzielen, die als Albumin-Endstückreaktion und Globulin-Mittelstückreaktion auf der Veränderung der aus Luesserum stammenden Fraktionen unter der Einwirkung von Wassermannextrakten beruhen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel
(Vorstand: Prof. Doerr).]

Zum Mechanismus der antihämolytischen Wirkung der Chinaalkaloide.

Von Dr. **Alfred Schnabel.**

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Dezember 1920.)

Es ist seit jeher üblich, die Störungen, die sich beim Ablauf der Immunhämolyse durch die Anwesenheit antihämolytischer Substanzen bemerkbar machen, als antikomplementäre oder als gegen den Ambozeptor gerichtete oder als antireaktive zu bezeichnen. Man versteht darunter die vollkommene Behinderung oder deutliche Verzögerung der Hämolyse 1) durch Beeinträchtigung des Komplements oder 2) des Ambozeptors oder 3) in der Art, daß die Bindung des Komplements an die ambozeptorbeladene Zelle oder durch eine andersartige Beeinflussung dessen Reaktionsfähigkeit verhindert wird. Den roten Blutkörperchen wurde bei der Immunhämolyse nur wenig Bedeutung bei antihämolytischen Vorgängen eingeräumt, obzwar gerade sie durch ihren eigenartigen Bau in physikalisch-chemischer Beziehung dazu geeignet erscheinen mußten, mit den die Immunhämolyse störenden Substanzen in dieser oder jener Art zu reagieren.

Man kennt eine große Anzahl verschiedener Substanzen und physikalischer Einflüsse mit antihämolytischen Eigen-

schaften. Es handelt sich zum Teil um chemisch vollkommen definierte Stoffe; doch sind auch viele komplex gebaute Substanzen von unbekannter Konstitution unter den hemmenden zu finden. Zu den ersteren gehören z. B. verschiedene Salze, wie Baryum, Calcium, Magnesium, zu jenen mit unbekannter Konstitution Organextrakte, manche Sera usw.

Salze können auf verschiedene Weise antihämolytisch wirken, so z. B. durch erhöhte Konzentration, wobei es nicht zu einer Schädigung des Komplements oder Ambozeptors kommt, da durch einfache Verdünnung oder Ausfällung des Salzes die Blutlösung eintritt. Jedoch können auch isotonische Lösungen von Salzen die Hämolyse hemmen. So ist die stark hemmende Wirkung des Baryums, Calciums u. a. m. bekannt. Es soll sich dabei nach manchen Autoren um eine Reaktion zwischen den Salzen und dem Komplement handeln (Manwaring, Hektoen und Ruediger u. a.). Andere Autoren wieder sehen die Ursache der Wirkung gewisser Salze in einer Verhinderung der Reaktion zwischen Komplement und ambozeptorbeladener Zelle (Dungern und Coca, Ruffer und Crendiropoulos u. a.). Allerdings wäre darauf hinzuweisen, daß eine isotonische oder hypertonische Lösung eines Salzes in Gegenwart von Erythrozyten ihren physikalischen Zustand bedeutend ändern kann, worauf noch weiter unten eingegangen werden wird.

Unter den die Immunhämolyse hemmenden Substanzen bieten jene mit bekannter oder unbekannter Zusammensetzung besonderes Interesse, die gleichzeitig hämolytisch und antihämolytisch wirken können. Zu solchen gehören z. B. gallensaure Salze, Pankreasextrakte und andere. Manche von diesen Stoffen sollen sogar in solchen Mengen die Hämolyse hemmen, in denen sie sonst selbst Blutkörperchen zu lösen vermögen.

Nur wenige Forscher brachten die Erscheinung der Hämolysehemmung mit einer Beeinflussung der Erythrozyten in Beziehung. Einzelne vermuteten in der Aenderung der osmotischen Verhältnisse der Zellmembran eine ausschlaggebende Bedeutung (Nolf, Markl). Noguchi sah beim Studium der antihämolytischen Wirkung normaler Sera, daß die wirksame Substanz durch Digerieren mit Blutzellen zum Teil verschwindet, und daß die so präparierten Erythrozyten

viel schwerer durch das hämolytische Serum in Gegenwart von Komplement gelöst werden konnten als unbehandelte. Dieser Autor konnte auch aus antihämolytisch wirkenden Sera einen Aetherextrakt gewinnen, der ebenfalls so wirkte und auch die Blutzellen im Sinne einer Resistenzsteigerung beeinflusste. Auch Friedemann konstatierte die Aufnahme der antihämolytisch wirkenden Pankreasextrakte durch die Erythrozyten, ohne jedoch diese Erscheinung mit der Hemmung der Hämolyse in Zusammenhang zu bringen. Seligmann, der die hemmende Wirkung des inaktivierten Meerschweinchenserums prüfte, faßt die Erscheinung rein physikalisch als in erster Linie durch Adsorptionsvorgänge bedingt auf. An diese Deutung schließt sich eng die als antireaktive Funktion gedeutete Beeinflussung der Immunhämolyse durch antihämolytische Sera von Bordet und Gay.

In vorliegender Mitteilung soll über Versuchsergebnisse berichtet werden, die auf den Zusammenhang zwischen manchen antihämolytischen Substanzen und den Blutzellen einiges Licht zu werfen vermögen. Die Versuche wurden mit zwei chemisch definierten Substanzen, dem Chinin und Optochin ausgeführt, die nicht nur die Eigenschaft haben, in höherer Konzentration Erythrozyten aufzulösen, sondern auch die Hämolyse durch den homologen Immunambozeptor in Gegenwart von Komplement zu hemmen. Letzteres äußert sich in einer starken Verzögerung der Immunhämolyse. Ueber die Fähigkeit des Chinins, die Komplementhämolyse anfangs zu hemmen und dann zu beschleunigen, wurde zuletzt von Rusznýk — ohne Angabe näherer Einzelheiten — berichtet.

Die hier mitgeteilten Versuche wurden mit Hammelblut und Kaninchenimmunserum als hämolytischem System und mit frischem Meerschweinchenserum als Komplement ausgeführt.

Erster Versuch (Tabelle I).

Fallende Mengen einer 1-proz. Lösung von Optochinum hydrochloricum in 0,85-proz. Kochsalzlösung wurden mit je 0,5 ccm der im Vorversuch ermittelten, noch wirksamen Komplementverdünnung gemischt und mit Kochsalzlösung auf 1,5 ccm aufgefüllt, worauf Zusatz von 0,5 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung gewaschener Hammelerythrozyten und 0,5 ccm der Ambozeptorverdünnung (zweifach lösende Titerdosis) erfolgte. Ein Röhrchen ohne Optochin diente als Kontrolle. Sämtliche Röhrchen kamen in die Brutkammer bei 37° C.

Tabelle I.

	Optoch. 1-proz.	NaCl 0,85-proz.	Komplement 1:20	Hammelblut 5-proz.	Ambozeptor 1:800
1. Röhrchen:	1 ccm	—	0,5 ccm	0,5 ccm	0,5 ccm
2. "	0,9 "	0,1 ccm	" "	" "	" "
3. "	0,8 "	0,2 "	" "	" "	" "
4. "	0,7 "	0,3 "	" "	" "	" "
5. "	0,6 "	0,4 "	" "	" "	" "
6. "	0,5 "	0,5 "	" "	" "	" "
7. "	0,4 "	0,6 "	" "	" "	" "
8. "	0,3 "	0,7 "	" "	" "	" "
9. "	0,2 "	0,8 "	" "	" "	" "
10. "	0,1 "	0,9 "	" "	" "	" "
Kontrolle:	—	1,0 "	" "	" "	" "

Nach 15 Minuten langem Stehen bei 37° C war die Kontrolle gelöst, während alle optochinhaltigen Röhrchen keine Hämolyse zeigten. Nach 30 Minuten sind die Röhrchen 8, 9 und 10 gelöst; nach 45 Minuten hat sich die Lyse auch auf das 7. Röhrchen, nach 60 Minuten auf das 6. und 5., nach 2 Stunden auf das 4. Röhrchen ausgedehnt. Zu dieser Zeit bemerkt man im 1. Röhrchen fast vollkommene, im 2. beginnende Hämolyse, während das 3. Röhrchen noch ungelöst ist. Nach weiteren 30 Minuten, also nach insgesamt 2½ Stunden, zeigen sämtliche Röhrchen Lyse.

Wie aus diesem Versuche zu ersehen ist, ist das Optochin imstande, die Hämolyse stark zu verzögern, es besitzt also die Eigenschaften eines Antih molyticum. Bevor wir auf eine Diskussion dieses Versuchsergebnisses eingehen, sei ein ähnlicher Versuch mit Chinin angeführt.

Zweiter Versuch (Tabelle II).

Fallende Mengen einer 1-proz. Lösung von Chininum hydrochloricum in 0,85-proz. Kochsalzlösung werden wie beim ersten Versuch mit Komplement, Hammelblut und Ambozeptor bei einem Gesamtvolum von 2,5 ccm gemischt und bei 37° C gehalten. Ein Röhrchen ohne Chinin dient als Kontrolle.

Tabelle II.

	Chinin 1-proz.	NaCl 0,85-proz.	Komplement 1:20	Hammelblut 5-proz.	Ambozeptor 1:800
1. Röhrchen:	1 ccm	—	0,5 ccm	0,5 ccm	0,5 ccm
2. "	0,9 "	0,1 ccm	" "	" "	" "
3. "	0,8 "	0,2 "	" "	" "	" "
4. "	0,7 "	0,3 "	" "	" "	" "
5. "	0,6 "	0,4 "	" "	" "	" "
6. "	0,5 "	0,5 "	" "	" "	" "
7. "	0,4 "	0,6 "	" "	" "	" "
8. "	0,3 "	0,7 "	" "	" "	" "
9. "	0,2 "	0,8 "	" "	" "	" "
10. "	0,1 "	0,9 "	" "	" "	" "
Kontrolle:	—	1,0 "	" "	" "	" "

Während die Kontrolle nach 15 Minuten gelöst ist, zeigen die chininhaltigen Röhrchen keine Aenderung in ihrem Aussehen. Nach 30 Minuten erfolgte Hämolyse in den Röhrchen 8, 9 und 10, nach 45 Minuten in den Röhrchen 6—8, nach 60 Minuten in 4—5, und nach 2 Stunden waren sämtliche Röhrchen gelöst.

Dieser Versuch (Tabelle II) zeigt also, daß auch das Chinin imstande ist, die Hämolyse deutlich zu verzögern. Denn während die Kontrolle ohne Chinin bereits nach 15 Minuten gelöst war, erfolgte in den chininhaltigen Röhrchen die Hämolyse stark verzögert, und zwar in Röhrchen mit der größten Chininmenge nach 2 Stunden. Es besteht auch, wie ersichtlich, eine große Aehnlichkeit zwischen der Wirkung des Chinins und der des Optochins, nur ist bei letzterem sowohl die hemmende als auch die lösende Kraft stärker ausgeprägt, was in der längeren Verzögerung der Hämolyse einerseits und in der früher auftretenden Lösung in den Röhrchen 1 und 2 mit den größten Optochinmengen andererseits zum Ausdruck kommt. Diese stärkere hämolytische Wirkung des Optochins im Vergleich zum Chinin konnte in hier nicht näher ausgeführten Versuchen mit Erythrozyten auch ohne Komplement und Ambozeptor festgestellt werden.

Die nächste Frage, die zu beantworten war, war die, um welche Art der antihämolytischen Wirkung es sich hier handelt. Eine antikomplementäre und eine gegen den Ambozeptor gerichtete Wirkung war von vornherein auszuschließen, da doch die Lösung, wenn auch verspätet, eintrat. Auch sprach ein Versuch, bei dem die Mischung von Blut, Ambozeptor, Komplement und Alkaloid zentrifugiert und gewaschen wurde und bei dem dann eventuell nach Zusatz von Komplement Hämolyse eintrat, für die Unversehrtheit des Ambozeptors. Nach dem bekannten Schema blieb also die Annahme übrig, daß es sich um eine sogenannte antireaktive Störung handle, sei es im Sinne einer Behinderung der Komplementverankerung an die Erythrozyten oder einer Resistenzvermehrung der Erythrozyten oder einer anderen Wirkungsart. Wohl wirkte ein Komplement- oder Ambozeptorüberschuß hemmungsvermindernd, doch wurde diesem Befunde aus oben angeführten Gründen keine besondere Bedeutung beigelegt, um so mehr, wenn man berücksichtigt, daß durch den Zusatz von überschüssigem Komplement oder Ambozeptor nicht allein die

komplettierende bzw. lösende Kraft erhöht, sondern auch der physikalische Zustand der miteinander in Beziehung tretenden Reaktionskomponenten sich ändert. Auch der Zusatz von gewöhnlichem, beliebigem Serum wirkte merklich hemmungsvermindernd.

Dagegen deutete auf eine Erhöhung der Resistenz der Erythrozyten folgender Versuch, bei dem die Reihenfolge des Zusatzes einzelner Reaktionskomponenten in der Art modifiziert wurde, daß die Blutkörperchen kurze Zeit (5 bis 10 Minuten) mit dem Alkaloid stehen gelassen wurden, worauf erst der Zusatz der anderen Reagentien erfolgte.

Dritter Versuch (Tabelle III).

Fallende Mengen einer 1-proz. Lösung von Optochinum hydrochloricum in 0,85-proz. NaCl-Lösung werden mit je 0,5 ccm Hammelblut gemischt, mit NaCl-Lösung auf 1,5 ccm aufgefüllt und 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf werden je 0,5 ccm verdünntes Komplement und Ambozeptor zugefügt. Ein Röhrchen ohne Optochin dient als Kontrolle. Sämtliche Röhrchen werden in die Brutkammer (37° C) gebracht.

Tabelle III.

	Optochin 1-proz.	Blut 5-proz.	NaCl 0,85-proz.		Komplement 1:20	Ambozeptor 1:800
1. Röhrchen	1,0 ccm	0,5 ccm	—	10 Minuten bei Zimmer- temperatur	0,5 ccm	0,5 ccm
2. "	0,9 "	dgl.	0,1 ccm		dgl.	dgl.
3. "	0,8 "	"	0,2 "		"	"
4. "	0,7 "	"	0,3 "		"	"
5. "	0,6 "	"	0,4 "		"	"
6. "	0,5 "	"	0,5 "		"	"
7. "	0,4 "	"	0,6 "		"	"
8. "	0,3 "	"	0,7 "		"	"
9. "	0,2 "	"	0,8 "		"	"
10. "	0,1 "	"	0,9 "		"	"
Kontrolle	—	"	1,0 "		"	"

Nach 15 Minuten zeigt das Kontrollröhrchen vollkommene Lösung. Erst nach 45 Minuten erfolgt in den Röhrchen 9 und 10, nach 60 Minuten im 7. und 8., nach 90 Minuten im 1., 4., 5. und 6. die Hämolyse, während das 2. und 3. Röhrchen noch ungelöst sind; nach 2 Stunden sind sämtliche Proben gelöst.

Aus dem Ausfall des dritten Versuches ist also zu ersehen, daß das Zusammenbringen der Blutkörperchen mit dem Alkaloid für kurze Zeit (10 Minuten) die hemmende Wirkung

des letzteren begünstigt. Bemerkenswert ist aber, daß dieser Einfluß sich nur bei den kleineren Alkaloidmengen, deren antihämolytische Wirkung sich nur auf kürzere Zeiträume erstreckt, bemerkbar macht; denn nach 2 Stunden zeigen sämtliche Röhrchen Lösung, ebenso wie beim ersten Versuch. Anscheinend wird diese Beeinflussung der Erythrozyten im Sinne einer Resistenzerhöhung bei den größeren Alkaloidmengen durch die Zeit verdeckt.

Wenn schon der Umstand, daß bei dem ersten und zweiten Versuch die Hämolyse, wenn auch verzögert, eintrat, die Vermutung, es könnte sich um einen reversiblen Vorgang handeln, nahelegte, so war es gerade die letzterwähnte Erscheinung, die zu einer solchen Annahme zu berechtigen schien. Schon aus anderen Versuchen waren mir die besonderen Beziehungen zwischen Erythrozyten und den Chinaalkaloiden bekannt. Sollte diesen Beziehungen irgendeine Bedeutung für das Zustandekommen der hämolytischen Wirkung beigelegt werden, dann müßte der Beweis erbracht werden, daß diese Beziehungen reversibler Natur sind. Letzteres konnte tatsächlich nachgewiesen werden.

An anderer Stelle¹⁾ wurde gelegentlich des Studiums der Verteilung der Chinaalkaloide im Blute auf das eigenartige Verhalten des Optochinspiegels im Serum in Gegenwart von Erythrozyten bei Reagenzglasversuchen hingewiesen, wenn man die Versuche auf Stunden ausdehnte. Es konnte dort gezeigt werden, daß das genannte Alkaloid nicht nur von den Erythrozyten aufgenommen, sondern auch nach einer bestimmten Zeit abgegeben wird, ohne daß irgendeine willkürliche Änderung in den Milieuverhältnissen, wie etwa ein Wechsel der Suspensionsflüssigkeit, vorgenommen worden wäre. In fortgesetzten Versuchen wurde dieser Befund vollkommen bestätigt und auch beim Chinin festgestellt und auf den speziellen Fall der antihämolytischen Wirkung bezogen, eine zeitliche Koinzidenz zwischen der Aufnahme und Abgabe dieser Alkaloide einerseits und der Hemmung der Hämolyse bzw. Eintreten derselben andererseits gefunden.

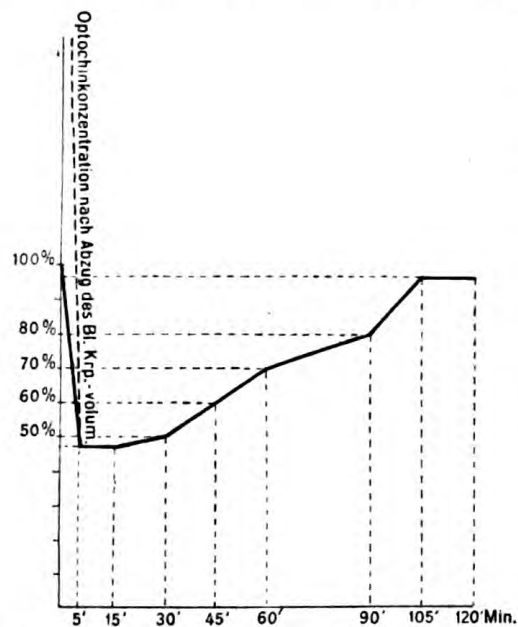
1) Biochem. Zeitschr., Bd. 112, 1920.

Die Alkaloidbestimmung erfolgte nach einem Verfahren, das von mir anderen Orts¹⁾ beschrieben wurde. Es sei hier nur erwähnt, daß dasselbe Verfahren sich nicht allein zur Bestimmung des Optochins, sondern auch des Chinins und anderer Substanzen als praktisch anwendbar erwiesen hat, worauf noch in einer besonderen Mitteilung zurückgekommen werden wird.

Folgender Versuch zeigt die besonderen quantitativen, in erster Linie als Funktion der Zeit erscheinenden Beziehungen zwischen den Erythrozyten und dem Optochin.

Vierter Versuch.

8 Röhrechen mit je 1,9 ccm frischen, defibrinierten Hammelblutes werden mit je 0,1 ccm einer 1-prom. Lösung von Optochinum hydro-



Optochinspiel im Serum in Gegenwart von Erythrozyten während 2 Stunden beobachtet.

chloricum in physiologischer Kochsalzlösung gemischt, so daß eine Optochinverdünnung 1:20 000 resultiert, wenn das Erythrozytenvolumen nicht berücksichtigt wird, und in die Brutkammer bei 37° C gestellt. Nach 5, 15, 30, 45, 60, 90, 105 und 120 Minuten wird je 1 Röhrechen zentrifugiert und das klare, nicht hämolytische, von einer Kontrolle ohne Optochin sich nicht unterscheidende Serum auf seinen Gehalt an Optochin mittels der oben erwähnten Methode untersucht. Es zeigt sich nun, daß in dem nach 5 Minuten langem Stehen bei 37° durch Zentrifugieren erhaltenen Serum nicht die rechnungsgemäß erwartete Konzentration 1:20 000, sondern nur eine solche von weniger als 1:50 000 nachweisbar, daß somit weniger als 50 Proz. des zugefügten Optochins im Serum vorhanden ist. Dieses Resultat konnte nicht wundernehmen, da ja die Speicherung der Chinaalkaloide durch Erythrozyten eine bekannte Erfahrungstatsache ist. Das nach 15 Minuten langem Stehen der Blutoptochinmischung gewonnene

erhaltenen Serum nicht die rechnungsgemäß erwartete Konzentration 1:20 000, sondern nur eine solche von weniger als 1:50 000 nachweisbar, daß somit weniger als 50 Proz. des zugefügten Optochins im Serum vorhanden ist. Dieses Resultat konnte nicht wundernehmen, da ja die Speicherung der Chinaalkaloide durch Erythrozyten eine bekannte Erfahrungstatsache ist. Das nach 15 Minuten langem Stehen der Blutoptochinmischung gewonnene

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 108, 1920.

Serum enthält ebensoviel. Dagegen zeigen die nach 30, 45 usw. Minuten abzentrifugierten Serumproben einen deutlichen Anstieg des Optochingehaltes, und zwar beträgt derselbe nach 30 Minuten ca. 50 Proz., nach 45 Minuten 60 Proz., nach 60 Minuten ca. 70 Proz., nach 90 Minuten gegen 80 Proz., und nach 105 und 120 Minuten fast 100 Proz., d. h. daß nach 2 Stunden die rechnungsgemäß erwartete Konzentration des Optochins im Serum fast vollkommen wiederhergestellt ist. Jedoch ist zu berücksichtigen, daß in diesem speziellen Falle das tatsächliche Lösungsvolumen nicht 1,9 ccm, sondern weniger beträgt, entsprechend der durch das Erythrozytenvolumen bedingten Differenz, und zwar betrug jenes 0,8 ccm, so daß bei einem tatsächlichen Lösungsvolumen von 1,1 ccm ($= 1,9 - 0,8$) die wirklich resultierende Konzentration 1 : 12 000 beträgt. Dementsprechend wären auch die in Prozenten ausgedrückten, nach verschiedenen Zeiten gefundenen Werte kleiner anzusetzen, was jedoch nichts an der Tatsache des allmählichen Ansteigens des Optochinspiegels ändern würde.

Aus diesem Versuche und der beigefügten, ihn graphisch darstellenden Abbildung geht klar hervor, daß das Optochin zuerst von den Erythrozyten aufgenommen und dann nach 30 und mehr Minuten allmählich an die umgebende Flüssigkeit abgegeben wird. Daß ähnliche Beziehungen zwischen dem Chinin und den Erythrocyten bestehen, beweist folgender Versuch.

Fünfter Versuch.

8 Röhrchen mit je 1,9 ccm defibrinierten Hammelblutes werden mit je 0,1 ccm einer 2-prom. Lösung von Chininum hydrochloricum in physiologischer Kochsalzlösung gemischt und bei 37° C gehalten. Nach 5, 30, 45, 60, 75, 90, 105 und 120 Minuten wird je ein Röhrchen zentrifugiert und das, sich von einer Kontrolle ohne Chinin nicht unterscheidende klare Serum auf seinen Gehalt an Chinin untersucht, und zwar nach dem gleichen Verfahren wie beim Optochin. Bei einem angenommenen Lösungsvolumen von 1,9 ccm würde eine Chininkonzentration von 1 : 10 000 resultieren. Die nach 5 Minuten langem Stehen erhaltene Serummengue zeigt jedoch nur eine Chininkonzentration von ca. 40 Proz. der erwarteten; der Rest ist von den Erythrozyten aufgenommen worden. Nach 30 Minuten sind bereits 50 Proz., nach 45 Minuten ebensoviel, nach 60 und 75 Minuten ca. 60 Proz., nach 90 und 105 Minuten ca. 80 Proz., und nach 120 Minuten über 90 Proz. der rechnungsgemäßen Chininkonzentration zu finden.

Das Ergebnis dieses Versuches entspricht im allgemeinen demjenigen des vorausgegangenen. Auch hier erfolgt nach Zusatz von Chinin zu einer Erythrozytenaufschwemmung eine Aufnahme des Alkaloids, was sich in einer Verminderung des Chiningehaltes im Serum um fast 60 Proz. kundgibt.

Nach einer halben Stunde und noch deutlicher nach weiterem Stehenlassen steigt der Gehalt des Serums an Chinin an und nähert sich nach 2 Stunden ziemlich stark der errechneten Konzentration. Das über das tatsächliche Lösungsvolumen oben Gesagte hat auch hier Geltung.

In Uebertragung dieser Versuchsergebnisse (vierter und fünfter Versuch) auf die Erscheinung der Verzögerung der Hämolyse durch Optochin und Chinin ist es naheliegend, in Berücksichtigung des Umstandes, daß die Hemmung der Hämolyse mit der Aufnahme dieser Alkaloide und die Abgabe derselben mit der allmählich erfolgenden Blutlösung zeitlich zusammenfällt, diese Aufnahme und Abgabe mit der Hemmung bzw. Eintritt der Lösung in einen ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Dadurch wäre der nur wenig aussagende Ausdruck „antireaktive Störung“ näher gekennzeichnet. In welcher Weise die Speicherung der Chinaalkaloide ihre antihämolytische Wirkung bedingt, läßt sich natürlich nicht leicht sagen. Für eine direkte Wirkung durch vorübergehende Resistenzsteigerung der Erythrozyten spricht der dritte Versuch. Es könnte sich aber auch um eine Verhinderung der Verankerung des Komplements an die ambozeptorbeladene Zelle oder der Entfaltung seiner Wirkung handeln. Daß nicht etwa eine Hämagglutination die Hämolyse hemmt — woran nach den Untersuchungen von Händel zu denken wäre — darüber unterrichtete die fortlaufende mikroskopische Untersuchung von Nativpräparaten. Schließlich wäre noch eine wichtige Wirkungsmöglichkeit in Betracht zu ziehen, das ist durch Steigerung des osmotischen Druckes der Blutzellen. Denn auch bei Anwendung von Lösungen, welche iso- oder gar hypotonisch sind, können sich die Druckverhältnisse innerhalb der Erythrozyten durch die Speicherung und Konzentrierung der Salze ändern, so daß die antihämolytische Wirkung auf diese Weise zustande kommen könnte. Es bestehen hier zweifellos innige Beziehungen zu der von Eschbaum, J. Traube, Tschernorutzky in einem anderen Zusammenhange näher untersuchte große Oberflächenaktivität der Chininderivate. Auch wäre an eine Kombination von Wirkungen zu denken in der Art z. B., daß anfangs die Steigerung des Innendruckes und die Resistenzvermehrung

die Hämolyse hemmen, später aber der Austritt des Alkaloids und Resistenzverminderung die Lösung zulassen oder gar begünstigen.

Bei der Annahme eines ursächlichen Zusammenhanges zwischen Aufnahme und Abgabe der Alkaloide durch die Erythrozyten einerseits und der Hemmung der Hämolyse andererseits wäre zwei Einwänden zu begegnen. Erstens könnte das Ansteigen des Alkaloidgehaltes im Serum nicht als Ursache, sondern als Folge der durch das Alkaloid selbst hervorgerufenen Hämolyse angesehen werden. Dagegen spricht der Umstand, daß das Optochin z. B. (vierter Versuch) in einer sehr schwachen, gar nicht hämolytisch wirkenden Konzentration zur Anwendung gelangt, wie sich das auch kolorimetrisch nachweisen läßt. Zweitens wäre dem Einwand zu begegnen, daß die Abgabe der Alkaloide durch die Erythrozyten nur zufällig als Parallelerscheinung auftritt und in keinem direkten Zusammenhang mit der Hemmung der Hämolyse stehe. Dagegen würde das bereits erwähnte zeitliche Zusammentreffen beider Vorgänge sprechen, ferner folgender Versuch, bei dem die Erythrozyten mit dem Alkaloid anderthalb Stunden bei 37° C stehen gelassen wurden, worauf erst der Zusatz von Ambozeptor und Komplement erfolgte; soll die erwähnte Annahme richtig sein, dann müßte jetzt die Hemmung ausbleiben, da ja nach anderthalb Stunden ziemlich viel Alkaloidsalz aus den Erythrozyten austritt.

Sechster Versuch (Tabelle IV).

Fallende Mengen einer 1-proz. Lösung von Optochin in physiologischer Kochsalzlösung werden mit je 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutes gemischt, mit Kochsalzlösung auf ein Volumen von 2,5 ccm gebracht und in die Brutkammer gestellt. Ein als Kontrolle dienendes Röhrchen enthält 0,5 ccm Blut und 2,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Nach anderthalbstündigem Verweilen bei 37° werden allen Röhrchen je 0,1 ccm Komplement (1:4) und Ambozeptorverdünnung (1:160) zugesetzt. Diese besonderen Mengenverhältnisse wurden deswegen gewählt, um die Optochinkonzentration womöglich derjenigen des ersten und zweiten Versuches zu nähern.

20 Minuten nach dem Zusatz von Komplement und Ambozeptor zeigen die Kontrolle und das 10. Röhrchen fast vollständige Lösung. Nach 30 Minuten sind außer der Kontrolle und dem 10. Röhrchen die Röhr-

chen 1—5 und 8—9 gelöst, während 6 und 7 nur Spuren von Hämolyse zeigen. Nach 55 Minuten, also nach insgesamt 2 Stunden 25 Minuten seit dem Zusammenbringen von Optochin mit den Blutkörperchen, sind sämtliche Röhrchen komplett gelöst.

Tabelle IV.

	Optochin 1-proz.	NaCl 0,85-proz.	Blut 5-proz.		Komplement 25-proz.	Ambozeptor 1:160
1. Röhrchen	1,0 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm	37° C bei 1 1/2 Stunden	0,1 ccm	0,1 ccm
2. "	0,9 "	1,1 "	dgl.		dgl.	dgl.
3. "	0,8 "	1,2 "	"		"	"
4. "	0,7 "	1,3 "	"		"	"
5. "	0,6 "	1,4 "	"		"	"
6. "	0,5 "	1,5 "	"		"	"
7. "	0,4 "	1,6 "	"		"	"
8. "	0,3 "	1,7 "	"		"	"
9. "	0,2 "	1,8 "	"		"	"
10. "	0,1 "	1,9 "	"		"	"
Kontrolle	—	2,0 "	"		"	"

Dieser Versuch zeigt, daß durch das eineinhalbstündige Zusammenbleiben von Alkaloid und Erythrozyten die anti-hämolytische Wirkung des ersteren viel weniger zum Ausdruck kommt, was auf die in dieser Zeit erfolgte Abgabe des Optochins zurückzuführen wäre. Ein ähnliches Resultat ergab ein analoger Versuch mit Chinin. Dennoch möchte ich die Frage offen lassen, ob nicht doch auch letzten Endes der Austritt des Alkaloids eine Folge der Lockerung des Gefüges der Erythrozytenmembran ist. Bei der bekannten zerstörenden Kraft der Chinaalkaloide in stärkeren Konzentrationen den Erythrozyten gegenüber ist das nicht vollkommen von der Hand zu weisen; die schwächeren Konzentrationen könnten die Zellmembran so weit lockern, daß wohl kein Hämoglobin, das Alkaloid aber ja auszutreten vermag. Dadurch bliebe jedoch die Annahme, daß die Alkaloidspeicherung mit der antihämolytischen Wirkung ursächlich zusammenhängt, nicht erschüttert.

Es erübrigt sich noch, mit wenigen Worten auf die in höheren Konzentrationen des Alkaloids auch ohne die Anwesenheit von Ambozeptor und Komplement eintretende Hämolyse einzugehen. Wie bereits erwähnt, gibt es eine Anzahl solcher Substanzen, die in gewissen Konzentrationen hämo-

lytisch, in anderen wieder antihämolytisch wirken können. Zu solchen gehören die gallensauren Salze, das oleinsaure Natron, Organextrakte, Metallsalze, und auch die Chinaalkaloide. Mit Rücksicht auf die zuletzt von Bechhold und Kraus und von Salen veröffentlichten Versuchsergebnisse über das Verhalten der Erythrozyten verschiedenen Sublimatkonzentrationen gegenüber wurden von mir die Blutkörperchenalkaloidgemische mikroskopisch untersucht. Die genannten Autoren konnten in Verfolgung der bereits von Ehrlich studierten Erscheinung, daß bei der Einwirkung von Sublimatlösungen auf Erythrozyten in höheren Konzentrationen Härtung und in schwächeren Lösung erfolgt, zeigen, daß dem verschiedenen Verhalten der roten Blutkörperchen ganz bestimmte morphologische Veränderungen entsprechen. In den hier mitgeteilten Versuchen konnten bei Anwendung schwacher Konzentrationen (vierter und fünfter Versuch) mikroskopisch keine besonderen Veränderungen der Erythrozyten gesehen werden; nur stärkere Konzentrationen ergaben Bilder, wie sie bereits Halberkann gesehen hat, und zwar nach anfänglicher Quellung später Schrumpfung.

Die äußere Aehnlichkeit des Ablaufes der Wirkung von Organextrakten bei der Prüfung deren antihämolytischen Eigenschaften bei der Wassermannschen Reaktion mit dem Verhalten der Chinaalkaloide könnte zur Annahme verleiten, daß vielleicht auch dort mindestens teilweise ein ähnlicher Mechanismus vorliegt. Wenn diese Annahme berechtigt sein soll, dann müßte der Beweis erbracht werden, daß auch dort eine Aufnahme und darauffolgende Abgabe der wirksamen Substanz erfolgt. Allerdings würde ein solches Unternehmen bei der großen Schwierigkeit des Nachweises der so kompliziert zusammengesetzten Extrakte fast undurchführbar sein. Viel mehr Aussicht auf Erfolg bieten andere, chemisch definierte Substanzen, die sich hinsichtlich ihrer antihämolytischen Wirkung so verhalten wie die Chinaalkaloide.

Zusammenfassung.

Es wurde die antihämolytische Wirkung des Chinins und Optochins bei der Immunnämolyse untersucht. Diese Alkaloide haben die Eigenschaft, in stärkeren Konzentrationen Erythro-

zyten aufzulösen und in verschiedenen Konzentrationen die Immnhämolyse deutlich zu verzögern; sie zeichnen sich durch ein besonderes Verhalten roten Blutkörperchen gegenüber aus, indem sie von letzteren zuerst aufgenommen und dann abgegeben werden. Die antihämolytische Wirkung der genannten Chinaalkaloide wird mit dieser Erscheinung der Aufnahme und das Eintreten der Hämolyse mit der Abgabe in Zusammenhang gebracht.

Literatur.

- Bechhold, H., Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. u. d. Georg Speyer-Hause in Frankfurt a. M., 1920, Heft 11.
 — und Kraus, W., Biochem. Zeitschr., Bd. 109, 1920.
 Bordet, J., et Gay, F. P., Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 22, 1908.
 Dungern und Coca, Biochem. Zeitschr., Bd. 13, 1908.
 — — Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 46.
 Eschbaum, Ber. d. Deutsch. Pharm. Gesellsch., Bd. 28, 1918.
 Friedemann, U., Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 15.
 Halberkann, J., Biochem. Zeitschr., Bd. 95, 1919.
 Händel, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 28, 1908.
 Hektoen, L., et Ruediger, G. F., Journ. of Infect. Dis., Vol. 4, 1907.
 Manwaring, H. N., Journ. of biol. Chem., Vol. 3, 1907.
 Markl, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39.
 Noguchi, Biochem. Zeitschr., Bd. 6, 1907.
 Nolf, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1900, No. 10.
 Ruffer, A., et Crendiropoulos, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 60, 1906.
 Ruzsnyák, S., Biochem. Zeitschr., Bd. 104, 1919.
 Salen, E., Ebenda, Bd. 110, 1920.
 Schnabel, A., Biochem. Zeitschr., Bd. 108 u. 112, 1920.
 Seligmann, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 32.
 Traube, J., Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912.
 — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920.
 Tschernorutzky, Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912.

Nachdruck verboten.

[Aus der serodiagnostischen Abteilung der Universitäts-Hautklinik
Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Jadassohn).]

Ueber die Sachs-Georgi-Reaktion und die „D.M.“ von E. Meinicke.

Von **Margarete Stern.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Januar 1921.)

Vergleichende Untersuchungen der Sachs-Georgischen (S.-G.R.) mit der Wassermannschen (WaR.) und der „Dritten Modifikation“ (D.M.) von Meinicke sind in unserer Abteilung an ca. 5000 Seren gemacht worden, und zwar in der Zeit vom 9. X. 1919 bis 24. IX. 1920. Es wurden täglich nicht mehr als ca. 40 Seren nach S.-G. und D.M. angesetzt, die aus dem für die Wassermannuntersuchung bestimmten Serenmaterial herausgesucht wurden. Wir benutzten für unsere Untersuchungen zwecks Erleichterung bei der Diagnosenfeststellung und vor allem wegen der Einheitlichkeit der Bedingungen in betreff des Alters und der Vorbehandlung der Sera nur unser eigenes klinisches und poliklinisches Material. Die Versuche haben sich fast über ein ganzes Jahr erstreckt, was für die Beurteilung neuer Reaktionen viel instruktiver ist, als wenn man dieselbe Anzahl von Seren in größeren Versuchsreihen, dafür aber in kürzeren Zeiträumen untersucht. Ebenso nämlich, wie die WaR.¹⁾ ihre

1) Bei dieser Gelegenheit möchte ich ein Vorkommnis bei der WaR. erwähnen, das ich im November vorigen Jahres zum erstenmal beobachtet habe. Während die Vorversuche und die Kontrollen in Ordnung waren, vergrößerte sich die Anzahl der positiven Reaktionen allmählich derart, daß wir zweifellos unspezifische Resultate bei unseren Untersuchungen hatten. Eine durchgreifende Prüfung unserer Extrakte, Ambozeptoren, Komplemente etc. führte zu keinem Ergebnis. Als letztes Mittel verschafften wir uns durch das Entgegenkommen von Herrn Primärarzt Dr. Kuznitzky (Städtisches Allerheiligen-Hospital) Komplement von den Tieren aus den dortigen Ställen, und von diesem Tage an war unser Versuch wieder normal. Da die Tiere im Allerheiligen-Hospital ganz anders als die unsrigen ge-

Kinderkrankheiten durchgemacht hat, die erst allmählich im Laufe der Jahre erkannt worden sind und selbst heute noch nicht ganz überwunden sind, so ist das anscheinend auch bei den Ausflockungsreaktionen von S.-G. und der D.M. der Fall. Wenn auch die Entdecker beider Reaktionen dauernd und mit Erfolg an der Vervollkommnung ihrer Methoden arbeiten, so ist bisher eine völlige Sicherheit noch nicht erreicht worden. Man hat bisweilen mit Zufälligkeiten und Unregelmäßigkeiten zu rechnen, die noch nicht genügend geklärt sind und daher nicht immer vermieden werden können. Damit hängt es auch zusammen, daß wir unseren ersten Plan, die Paralleluntersuchungen mit WaR., S.-G. und D.-M. gleichzeitig an denselben 5000 Seren zu machen, nicht vollständig durchführen konnten. Als wir nämlich am 9. X. 1919 mit den Parallelversuchen begannen, befand sich die S.-G.R. gerade in einer negativen Phase, die bis zum 30. X. anhielt, und von da ins „Normale“ überging. Hätten wir die Untersuchungen dieser 3 Wochen, in denen die positiven Seren sich von den negativen meistens nur durch eine Andeutung einer positiven Reaktion unterschieden, in die vergleichende Statistik hineingenommen, so wäre dieselbe für Sachs-Georgi verhältnismäßig ungünstig ausgefallen. Eine fast noch länger anhaltende negative Phase stellte sich am 22. XI. 1919 ein und dauerte bis zum 24. I. 1920. Beide Zeiten habe ich bei der

füttert wurden, im wesentlichen mit Küchenabfällen, während unsere Tiere nur Heu und Rüben bekamen, so ist die Veränderung des Komplements wohl am ehesten auf eine ungeeignete, d. h. dem Komplement nicht zuträgliche Ernährung der Meerschweinchen zurückzuführen. (Fütterungsversuche verschiedener Art, die wir infolge dieser Episode machten, führten zu keiner Bestätigung unserer Annahme, aber sie hätten auch in einem viel größeren Maßstabe vorgenommen werden müssen, als das bei den jetzigen Verhältnissen möglich ist.) Nachdem wir einige Wochen das Komplement aus dem Allerheiligen-Hospital benutzt hatten, stellten wir durch Parallelversuche fest, daß unsere Tiere, die inzwischen etwas besser ernährt worden waren, wieder brauchbar waren.

Aus der Literatur ist mir nur eine ähnliche Beobachtung von K. Hintze (Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 84, Heft 1) bekannt. Der Verfasser hat ähnliche Stadien mit auffallend hohem Prozentsatz positiver Reaktionen bei der WaR. durchgemacht und führt dieselben auf die Komplementveränderung bei Meerschweinchen zurück, die — oft äußerlich noch gar nicht nachweisbar — an Pseudotuberkulose litten.

Zusammenfassung ausgelassen, und um auch bei Sachs-Georgi über die gleiche Anzahl von Seren, wie für die D.M. verfügen zu können, habe ich die Versuche über die S.-G.R. ca. 6 Wochen später abgeschlossen als die Versuche über die D.M. Von Ende Januar bis zum Abschluß unserer Untersuchungen haben wir keine „negative Phase“ mehr beobachtet.

Eine Erklärung der negativen Phasen steht noch dahin. Sie sind um so weniger zu verstehen, als in unseren Versuchen ein und derselbe Extrakt durch sämtliche Versuche von Anfang bis zu Ende hindurchgegangen ist, und was die Technik betrifft, so sind fast alle Versuche, jedenfalls aber die der negativen Phasen und die meisten übrigen Untersuchungen von meiner gut eingearbeiteten Mitarbeiterin, Frl. Werner, gemacht worden. Neben diesem Extrakt, der in unserer Klinik hergestellt wurde, sind die Untersuchungen noch mit einem zweiten, meist einem in Frankfurt hergestellten, den wir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Sachs erhalten haben, angestellt worden. Beide Extrakte stimmten bis auf geringe Differenzen auch in den Zeiten der negativen Phasen gut überein.

Da die S.-G.R. sehr empfindlich gegen Temperaturunterschiede ist, wäre es möglich, daß die infolge der Gassperrstunden mangelnde Konstanz unserer Brutöfen mit am Mißlingen der Versuche Schuld trägt. Sachs neigt dazu, zunächst eine Veränderung der Kochsalzlösung anzunehmen. Einen Beweis für die Richtigkeit der einen oder anderen Hypothese müssen wir aber schuldig bleiben.

I. Die Sachs-Georgi-Reaktion.

Die Versuche sind mit der von Sachs angegebenen Technik ausgeführt worden. Die Versuchsanordnung ist denkbar einfach. 1 ccm 10-fach in physiologischer Kochsalzlösung verdünntes inaktiviertes Patientenserum wird mit 0,5 ccm 6-fach mit Kochsalzlösung verdünntem cholesterinierten Rinderherzextrakt gemischt. Die Röhrchen werden gut geschüttelt und kommen für 24 Stunden¹⁾ in den Brutschrank. Am nächsten Tage

1) Wir haben die S.-G.R. schon $\frac{1}{2}$ Jahr vor den heute publizierten Untersuchungen an einem Material von 4900 Seren nachgeprüft, haben aber damals nach der ersten Angabe der Autoren den Versuch, der sonst ebenso

werden die Röhrchen mit dem Agglutinoskop betrachtet und die Niederschläge je nach der Stärke mit 1—3 Kreuzen bezeichnet. Die einzige Abweichung, die wir uns zu Zeiten gestattet haben, ist die, daß wir die Versuche anstatt mit $\frac{1}{10}$ mit $\frac{1}{5}$ Serum angesetzt haben, um sie etwas nach der positiven Seite zu beeinflussen, was aber nur in sehr geringem Grade gelang. Die Zusammenfassung der Parallelversuche ist in den Zahlen in Tabelle I enthalten.

Es wurden alles in allem 5008 Sera untersucht. Davon waren 480 Normalfälle, d. h. eine Reihe von Haut- und anderen Fällen, bei denen Lues nach Diagnose und Anamnese auszuschließen sei. Außerdem wurden zur Kontrolle 146 Ulcus molle-, 30 Tuberkulose- und 43 Lupus-Fälle geprüft, die in unserer Tabelle besonders gezählt sind, weil bei ihnen nach

wie der jetzige vorgenommen wurde, anstatt 24 Stunden nur 2 Stunden im Brutschrank und dann bis zum nächsten Morgen bei Zimmertemperatur stehen lassen. Wir fanden dabei eine Uebereinstimmung von 4160 Seren und Differenzen bei 740 Seren. Dabei zeigte sich S.-G.R. 463mal stärker als WaR., 277mal umgekehrt. Dabei sind alle, auch quantitative Differenzen gerechnet. Zieht man nur die vollständigen Differenzen zwischen positiv und negativ in Betracht, so haben wir bei 4900 Untersuchungen 267 Differenzen, und zwar 91mal positive WaR. bei negativer S.-G.R. und 176mal positive S.-G.R. bei negativer WaR.

In erster Reihe bestehen die Differenzen bei behandelten Lues- und Lues latens-Fällen, bei denen S.-G.R. 56mal positiv war bei negativer WaR., während das Umgekehrte nur 24mal festzustellen war.

Dagegen fanden wir WaR. in 9 Lues I-Fällen der S.-G.R. überlegen, nur 1mal das Umgekehrte, 11mal war WaR. bei Lues II positiv bei negativer S.-G.R. und nur 1mal fanden wir hier S.-G.R. überlegen.

Von Nichtluetikern haben wir 204 untersucht, von denen 13 (9 Ulcus molle-Fälle, 3 Gonorrhöe und 1 Bubo) positiv waren, also etwa 6 Proz. anscheinend nichtspezifische Reaktionen. — Sachs hat später zur Vermeidung der hier unstreitig vorgekommenen unspezifischen Reaktionen anstatt des 2-stündigen den 20-stündigen Aufenthalt im Brutschrank empfohlen, da er gefunden hat, daß Temperaturniedrigungen unter Umständen die einfache, für Lues nicht charakteristische Flockung der Serumglobuline begünstigt. Nach den Erfahrungen von Sachs gewährleistet ein 20-stündiger Aufenthalt im Thermostaten ein für Lues charakteristischeres Verhalten der Sera.

Wir haben auf die Angaben hin von einer Publikation unserer damaligen Versuche abgesehen und obige neuen Versuchsreihen angesetzt, möchten aber an dieser Stelle doch kurz unsere früheren Versuche erwähnen, da sie für die Richtigkeit der Annahme von Sachs sprechen.

Tabelle I.

Anzahl d. unter- suchten Fälle	Normale	Ulcus molle	Tuberkulose	Lupus	Lues	Lues ?	Ueberein- stimmung beider Re- aktionen			S.-G.R. über Wa.R.			Wa.R. über S.-G.R.			Nicht zu unter- suchende Sera											
										S.-G.			Wa.R.				Wa.R.			S.-G.							
							+	0	?	+	0	?	+	0	?		+	0	?	+	0	?					
5008	480	146	30	43	3616	693	1252	2960	182	257	.	49	.	199	107	182	.	114	.	236	60	12					
							4394			306			306			296			296								
														602													

der Literatur öfter positive Reaktionen gefunden worden sind. Luesfälle wurden 3616 und Fälle mit fraglicher Lues wurden 693 untersucht. Uebereinstimmend nach beiden Reaktionen waren 4394 Fälle, und zwar 1252 positiv, 2960 negativ und 182 fraglich. Die nächsten zwei (zu je 3 Spalten) Rubriken gewähren einen Ueberblick, wie oft die S.-G.R. der Wa.R. überlegen war. Wir sehen, daß sie 306mal stärker ausfiel, und zwar 257mal positiv und 49mal fraglich gegenüber der Wa.R., die in diesen Fällen 199mal negativ und 107mal fraglich war.

Die folgenden zwei Rubriken (zu je 3 Spalten) zeigen uns, wie oft die Wa.R. der S.-G.R. überlegen war. Wa.R. war im ganzen 296mal stärker als S.-G.R., und zwar 182mal positiv und 114mal zweifelhaft gegenüber der S.-G.R., die 236mal negativ und 60mal fraglich ausfiel.

Nicht zu untersuchende Sera, bei denen auch die Serumkontrolle allein Fällung aufwies, hatten wir im ganzen nur 12 gefunden.

Bei dieser Zusammenstellung sind alle, auch die geringsten Unterschiede in dem Ausfall der beiden zu vergleichenden Reaktionen gerechnet worden.

Im ganzen haben wir unter 5000 untersuchten Fällen 602 Differenzen zwischen den Reaktionen gefunden, also in 12 Proz. der Fälle. Diese Differenzen verteilen sich fast gleichmäßig auf beide Reaktionen (306 gegen 296), so daß sowohl Wa.R. wie S.-G.R. in ca. 6 Proz. der Differenzen der Parallelreaktion überlegen bzw. unterlegen sind. Was für Fälle sind es nun, in denen die Reaktionen divergieren?

Tabelle II.

Zusammenstellung aller Differenzen, auch der geringsten.

1. Reihe: S.-G.R. über WaR. in 306 Fällen.

2. „ WaR. über S.-G.R. „ 296 „

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n	o
	Normale	Lupus	Tuber- kulose	Ulcus molle	Tabes	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues behandelt	Lues ohne nähere Angaben	Lues con- genitalis	Lues?	ohne Diagnose
1. Reihe	16	2	1	6	2	11	46	4	134	42	6	1	34	.
2. „	4	.	.	4	6	56	96	1	59	35	11	3	20	1

Die erste Differenz zeigte die erste Rubrik: die normalen Sera, die im wesentlichen von Gonorrhoeen, Bubo, Syphilidophobie und Hautleiden stammen. Hier scheint die S.-G.R. leichter zu einer Fällung zu neigen als die WaR. — 4mal Hemmung der Hämolyse. Etwas stärker erscheinen die Unterschiede zwischen der WaR. und S.-G.R. ausgesprochen bei Lues I, II und Lues latens. Hier hat man doch den Eindruck, daß die WaR. in Lues I- und II-Fällen überlegen ist, während die S.-G.R. bei den Lues latens-Fällen sich entschieden empfindlicher erweist.

Um festzustellen, ob und inwieweit die obige Statistik bestätigt werden würde, wenn ich alle kleinsten und halben Differenzen zwischen den beiden Reaktionen vernachlässigen, und nur die völlig entgegengesetzten rechnen würde, habe ich noch eine zweite Zusammenstellung der Differenzen bei denselben Seren gemacht. Hier sind nur die Unterschiede zwischen positiv und negativ berücksichtigt, und zwar wurden bei der WaR. die Sera als „positiv“ angesehen, die bei der Zusammenziehung der Ergebnisse aller zur Untersuchung verwerteten Extrakte so bewertet worden waren. Bei der S.-G.R., deren Stärke nach Kreuzen beurteilt wird, galt uns jedes Serum von 1—4 Kreuzen als positiv. Die Fällungen bei S.-G. fallen so verschieden in der Feinheit aus, das man unbedingt auch die feinsten Fällungen, wenn sie deutlich sind, als positiv ansehen muß. Unter 5008 Fällen sind 267 Fälle mit gänzlich entgegengesetzten Resultaten, d. h. also in reichlich 5 Proz. Dieser Prozentsatz verteilt sich auf die

beiden Reaktionen etwa so, daß S.-G.R. in ca. 2,8 Proz. der Fälle positiv war bei negativer WaR. und WaR. in ca. 2,2 Proz. positiv bei negativer S.-G.R. Näheres zeigt die 2. Zusammenstellung.

Tabelle III. 2. Zusammenstellung.

Totale Differenzen in den Resultaten bei WaR. und S.-G.R. bei obigen 5008 Seren.

1. Reihe: S.-G.R. über WaR. bei 152 Seren } 267
2. „ WaR. „ S.-G.R. „ 115 „ }

	Normale	Lupus	Tuber- kulose	Ulcus molle	Tabes	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues behandelt	Lues ohne nähere Angabe	Lues con- genitalis	Lues ?
1. Reihe	7	—	—	2	—	4	14	3	77	24	1	—	20
2. „	.	—	—	—	2	18	19	—	24	14	7	2	9

Beim Vergleich der beiden Zusammenfassungen sehen wir, daß sich die Gegensätze, die wir in der 1. Tabelle festgestellt haben, bei Lues I, II, latens und behandelter Lues sowie Normalfällen noch verstärkt haben. Bei Lues I hat sich das Verhältnis etwas zugunsten von S.-G.R. verschoben, aber die Superiorität der WaR. ist doch weiter deutlich zu erkennen¹⁾.

Wenn man nun diese Differenzen in den Hauptrubriken im Vergleich zu den Gesamtzahlen der Untersuchungen betrachtet, so ergibt sich folgendes Bild:

1. Reihe: Anzahl der Gesamtuntersuchungen von Lues I, II, III, latens und behandelter.
2. „ Anzahl der Uebereinstimmungen von S.-G.R. und WaR. bei Lues I, II, III, latens und behandelter.
3. „ S.-G.R. über WaR. (alle Differenzen) bei Lues I, II, III, latens und behandelter.
4. „ WaR. über S.-G.R. (alle Differenzen) bei Lues I, II, III, latens und behandelter.
5. „ S.-G.R. über WaR. (nur totale Differenzen) bei Lues I etc.
6. „ WaR. über S.-G.R. (nur totale Differenzen) bei Lues I etc.

1) Auf die Literatur, die bereits recht beträchtlich ist, gehe ich wegen Raumersparnis nicht ein und berichte nur über meine eigenen Untersuchungen. Nur eines sei an dieser Stelle erwähnt: daß die Nachuntersucher gerade über die oben erwähnte Superiorität der WaR. bei Lues I nicht übereinstimmende Resultate berichten.

Tabelle IV.

	Normale inkl. Tuberkulose, Ulcus molle, Lupus	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues behandelt
R. 1	699	293	716	20	1384	610
R. 2	678 ca. 97 %	226 ca. 77 %	574 ca. 81 %	15 ca. 75 %	1191 ca. 86 %	533 ca. 87 %
R. 3	16 „ 2,3 „	11 „ 4 „	46 „ 6 „	4 „ 20 „	134 „ 10 „	42 „ 7 „
R. 4	4 „ 0,6 „	56 „ 19 „	96 „ 13 „	1 „ 5 „	59 „ 4 „	35 „ 5,7 „
R. 5	7 „ 1 „	4 „ 1,4 „	14 „ 2 „	3 „ 15 „	77 „ 5,5 „	24 „ 3 „
R. 6	— —	18 „ 6 „	49 „ 7 „	— —	24 „ 2 „	14 „ 2 „

Die Zusammenstellung ergibt, daß bei Lues I die WaR. in 6 Proz., bei Lues II in 7 Proz. aller untersuchten Fälle schärfer als die S.-G.R. ist, während das Umgekehrte nur in 1,4 Proz. bzw. 2 Proz. der Fall ist. Dagegen erweist sich die S.-G.R. bei Lues latens in 5,5 Proz. (gegenüber der WaR. in 2 Proz.) und bei Lues behandelter in 3 Proz. (gegenüber WaR. in 2 Proz.) der WaR. überlegen. Nichtspezifische Ausfälle bilden 1 Proz. der Reaktionen nach S.-G.R., während sie nach W. fehlen. Diese nichtluetischen Fälle setzen sich zusammen aus je einem Patienten mit Lupus, Gonorrhöe, Kopfschmerzen, Nervenkrankheit, Pruritus, Ulcus molle und Hysterie.

Vergleichende Untersuchungen von Lumbalflüssigkeiten nach Sachs-Georgi und Wassermann.

Es wurden 378 Lumbalflüssigkeiten in der Zeit vom 3. Okt. 1919 bis 12. Nov. 1920 untersucht.

Folgende Tabelle erleichtert die Uebersicht:

Tabelle V.

1	2	3	4	5	6						7						8			9
Zahl d. unter- suchten Lum- balflüssigkeit	Ohne Diagn.	Lues	Lues ?	Normale	S.-G.R. über WaR.						WaR. über S.-G.R.						Ueberein- stimmung beider Reak- tionen			Spontane Ausflockung
					S.-G.R.			WaR.			WaR.			S.-G.R.						
					+	0	?	+	0	?	+	0	?	+	0	?	+	0	?	
378	139	170	64	5	16	.	13	.	25	4	9	.	10	.	17	2	48	261	2	19
					29			29			19			19			311			
					48															

Unter 378 Fällen befanden sich 170 Luesfälle, 64 fragliche und 139 ohne Diagnose.

Um mehr Untersuchungsmaterial zu bekommen — da bei der beschränkten Menge der Lumbalpunktionen sehr oft alles für die notwendigsten Untersuchungen aufgebraucht wird — haben wir auch die uns von auswärts eingesandten Lumbalfüssigkeiten benützt. Leider ist dadurch eine große Anzahl der Diagnosen zweifelhaft oder fehlt gänzlich.

Unter den 378 Lumbalfüssigkeiten waren 19 wegen Alleinhemmung nicht untersuchbar. Von den restierenden 359 stimmten 311 Fälle überein, das sind 86 Proz., und zwar 48 positive, 261 negative und 2 fragliche. Die 14 Proz. betragenden Differenzen verteilen sich so, daß S.-G.R. in 9 Proz. schärfer als WaR. ausfällt, während das Umgekehrte nur in 5 Proz. der Fall ist. Die Rubrik 6 (zu 2×3 Spalten) zeigt, daß die S.-G.R. der WaR. in 29 Fällen überlegen war, und zwar 16mal positiv und 13mal zweifelhaft gegenüber der WaR., die dabei 26mal negativ und 4mal zweifelhaft ausfiel. — Aus der Rubrik 7, die wiederum aus 2mal 3 Spalten besteht, sehen wir, daß die WaR. der S.-G.R. in 19 Fällen überlegen war, und zwar mit 9mal positiven und 10mal fraglichen Resultaten gegenüber 17 fraglichen und 2 negativen Ergebnissen von S.-G.

Bei dieser Zusammenstellung sind alle, auch nur quantitative Unterschiede, bei den beiden Reaktionen gerechnet worden. Zieht man nur die totalen Differenzen beider Reaktionen in Betracht und vergleicht dieselben mit der Zahl der Gesamtuntersuchungen bei den verschiedenen Krankheiten, so ergeben sich folgende Zahlen (siehe Tabelle VI auf p. 176).

1. Reihe: Zahl der Gesamtuntersuchungen.
2. „ Zahl der Uebereinstimmungen beider Reaktionen.
3. „ S.-G.R. über WaR. (alle Differenzen).
4. „ WaR. über S.-G.R. „ „
5. „ S.-G.R. über WaR. (nur totale Differenzen).
6. „ WaR. über S.-G.R. „ „

Demnach verhalten sich beide Reaktionen gleich bei Lues I und Lues latens. Dasselbe finden wir auch bei Lues II, wenn wir die totalen Differenzen nicht berücksichtigen. Andernfalls ist die WaR. bei Lues II (mit 5 Proz. gegen 1,2 Proz.) der S.-G.R. überlegen. Die sonstigen Differenzen sind zu unbedeutend, um sie besonders hervorzuheben.

Tabelle VI.

	1	2	3	4	5	6
	Normale	ohne Diagnose	Lues I	Lues II	Lues II I	Lues latens
1. Reihe	5	131	12	83	3	20
2. "	4 ca. 80 %	119 ca. 90 %	10 ca. 83 %	67 ca. 80 %	2 ca. 66 %	16 ca. 80 %
3. "	1 " 20 "	11 " 9 "	1 " 0,8 "	8 " 10 "	—	2 " 10 "
4. "	—	1 " 0,8 "	1 " 0,8 "	8 " 10 "	1	2 " 10 "
5. "	—	5 " 4 "	—	1 " 1,2 "	—	2 " 10 "
6. "	—	—	—	4 " 5 "	1	—

	7	8	9	10	11
	Lues behandelt	Lues ohne nähere Ang.	Tabes	Paralyse	Lues ?
1. Reihe	11	20	6	16	51
2. "	11 ca. 100 %	16 ca. 80 %	3 ca. 50 %	14 ca. 88 %	46 ca. 90 %
3. "	—	1 " 5 "	1	—	3
4. "	—	1 " "	2	2 ca. 12 %	1
5. "	—	2 " 10 "	1	—	3
6. "	—	1 " 5 "	1	—	—

Erste Zusammenfassung.

Die S.-G.R. stimmt bei Seren in 88 Proz. mit der WaR. überein. Die 12 Proz. betragenden Divergenzen verteilen sich etwa gleichmäßig auf beide Reaktionen, so daß sowohl die WaR. wie die S.-G.R. in ca. 6 Proz. der Parallelreaktion überlegen, bzw. unterlegen ist.

Die S.-G.R. ist empfindlicher als die WaR. in Fällen von Lues latens und Lues behandelt.

Die WaR. erweist sich stärker als die S.-G.R. in Fällen von Lues I und Lues II.

Bei Lumbalfüssigkeiten verläuft die S.-G.R. mit der WaR. in 86 Proz. der Fälle parallel, die 14 Proz. betragenden Differenzen verteilen sich so, daß S.-G.R. in 9 Proz. die WaR. in 5 Proz. schärfer ausfällt.

Die S.-G.R. bildet demnach eine wertvolle Bereicherung der Lues-Diagnose, wenn sie neben der WaR. ausgeführt wird, da dadurch die Anzahl der positiven Resultate bei Lues behandelt und Lues latens erhöht wird. Außerdem gewinnt die Sicherheit der Resultate bei Uebereinstimmung zweier Methoden, die mit verschiedenen Indikatoren arbeiten.

Eine alleinige Untersuchung nach S.-G.R. ist zurzeit noch nicht anzuraten, da einerseits die positiven Resultate bei Lues I und Lues II dadurch verringert werden würden und andererseits die eventuell eintretenden negativen Phasen bei der S.-G.R. nicht sofort bemerkt werden könnten.

II. Die dritte Modifikation von Meinicke (D.M.).

Meinicke hat nacheinander 3 verschiedene Fällungsreaktionen publiziert. Außer der letzten, der D.M., über deren Nachprüfung wir in der heutigen Arbeit berichten, haben wir noch vorher die sogenannte „Meinicke-Reaktion“, die zweizeitig ausgeführt wird, nachgeprüft.

Leider hat die M.R., so verständnisvoll sie auch in der Theorie und in ihrem Aufbau ist, in der Praxis den großen Nachteil, daß sie nicht gleichmäßig funktioniert. Man kann sie mit gutem Recht mit launenhaft bezeichnen. Während wir an manchen Tagen bei unseren, über Monate ausgedehnten Versuchen, eine fast völlige Uebereinstimmung der M.R. mit der Wa.R. erhielten, kamen ohne ersichtlichen Grund dann Zeiten, in denen der Versuch vollkommen versagte. Man erkannte das gewöhnlich schon an dem Vorversuch, der täglich mit einigen Normalseren angesetzt wird, um die Stärke der später zu verwendenden Kochsalzkonzentration auszutitrieren. Wenn es schon bei normalen Versuchen vorkam, daß die Lösung der Fällungen bei den Standard-Normalseren nicht gleichmäßig von statten ging, so trat sie in kritischen Zeiten, selbst unter Verwendung der stärksten Kochsalzkonzentrationen, nicht ein. Man konnte sich dann natürlich die Ansetzung des Hauptversuches ersparen. Möglicherweise ist die Ursache derartiger Mißerfolge in Temperaturdifferenzen zu suchen, die nach Meinicke, auch wenn sie nur minimal sind, die Reaktion erheblich zu schädigen vermögen. Leider sind derartige Temperaturschwankungen sehr schwer zu vermeiden, so daß wir die M.R. für unsere Zwecke nicht weiter verwertet haben. Es wäre aber wohl möglich, daß sie bei geeignetem Ausbau eine Bedeutung erlangen könnte.

Das Prinzip der D.M. ist, daß syphilitische Sera bei relativ hohem Kochsalzgehalt (ca. 2 Proz.) durch Extraktlipide ausgeflockt werden. Zur Extraktbereitung benützt Meinicke getrocknete Pferdeherzen, die er zuerst durch Aetherextraktion von störenden, fettigen Stoffen befreit. Die Technik der D. M. ist sehr einfach: zu 0,2 ccm der $\frac{1}{4}$ oder $\frac{1}{2}$ Stunde inaktivierten Sera gibt man den vorschriftsmäßig verdünnten Extrakt hinzu, schüttelt um und läßt die Röhrchen bis zum nächsten Tage im Brutschrank stehen. Die positiven Sera

sind dann mehr oder weniger stark ausgeflockt, die negativen nicht. M. empfiehlt, seine Reaktion mit 3 verschiedenen Extraktverdünnungen anzusetzen. Während nämlich stark positive Sera mit jeder der 3 Extraktmengen (0,5, 0,8 und 1,2 ccm) ausflocken, ist das Optimum von schwach positiven Seren bald in einer höheren, bald in einer niedrigeren Extraktmenge zu finden. Für unsere Untersuchungen haben wir die Extrakte selbst hergestellt und nur manchmal zur Kontrolle einen uns von Herrn Dr. Meinicke lebenswürdigst übersandten Extrakt benützt. Wir prüften durchgängig mit 2 bis 3 Extraktdosen. Die Resultate, bei deren Ablesung wir, wie bei der S.-G.R., das Agglutinoskop benutzten, wurden je nach der Stärke mit 1—4 Kreuzen bezeichnet.

Etwas störend bei der Ablesung der Resultate wirkt es, daß der Extrakt, den wir täglich als Kontrolle ansetzen auch ohne Serum fast nie ganz homogen aussieht, sondern mehr oder weniger deutliche Fällungen aufweist. Dieselben unterscheiden sich von den starken, charakteristischen Ausfällen im Versuch dadurch, daß ihnen das scharf Umschriebene dieser fehlt, und sie meist einen mehr verwaschenen Eindruck machen. Trotzdem ist es bei Grenzfällen manchmal schwer zu sagen, was man noch als negativ ansehen kann. Diese Unsicherheit könnte man vermeiden, wenn man die Resultate nur mit dem bloßen Auge ablesen würde, aber dann müßte man auch auf eine Reihe der positiven Resultate, die man nur mit dem Agglutinoskop wahrnimmt, verzichten.

Es wäre freilich sehr wünschenswert, Extrakte zu besitzen, die klar blieben und auch über Nacht keine Ausflockung zeigten. Unsere Versuche nach dieser Richtung, indem wir die Aetherextraktion, die Aqua destillata-Zusätze bei der täglichen Extrazubereitung und die Alkoholverdünnungen variierten, haben uns bisher keinen Weg gewiesen, auf dem der Uebelstand zu beseitigen wäre. Unter etwa 10 von uns hergestellten Extrakten fand sich ein einziger, der homogen blieb, auch ein Originalextrakt von Meinicke, den wir daraufhin prüften, machte keine Ausnahme. Da die Spontantrübungen der Extrakte sich an Intensität von einem Tag zum anderen ändern, liegt ihre Ursache vielleicht auch in kleinen unkontrollierbaren Temperaturschwankungen, die überhaupt bei der D.M. eine mindestens so große Rolle spielen wie bei der S.-G.R.

Unsere vergleichenden Untersuchungen¹⁾ der WaR. mit der D.M. erstrecken sich auf 5027 Seren, deren Verarbeitung folgende Tabelle zeigt.

Tabelle VII.

1	2	3	4	5	6	7	8			9						10					
Anzahl der untersuchten Sera	Normale	Ulcus molle	Tuberkulose	Lupus	Lues	Lues?	Ueberein- stimmung beider Reakt.			D.M. über WaR.						WaR. über D.M.					
										D.M.			WaR.			WaR.			D.M.		
							+	0	?	+	0	?	+	0	?	+	0	?	+	0	?
							5027	434	312	73	89	3561	556	1377	2913	152	446	.	23	.	252
							4442			469			469			116			116		
							585														

Wir ersehen aus obiger Tabelle, daß unter 5027 Seren 434 normale (meist Hautfälle), 312 Ulcus molle, 73 Tuberkulose und 89 Lupusfälle untersucht worden sind (Rubr. 1—5). Luesfälle hatten wir 3561 und Fälle mit fraglicher Lues 556 (Rubr. 6 u. 7). Uebereinstimmend waren beide Reaktionen in 4442 Fällen (88 Proz.), und zwar 1377 positive, 2913 negative und 152 fragliche (Rubr. 8). Die nächste Rubrik (9) zeigt, wie oft die D.M. der WaR. vollständig überlegen war, und wie oft das nur teilweise der Fall war. Wir sehen, daß die D.M. 469mal stärker ausfiel als die WaR., und zwar 446mal positiv und 23mal zweifelhaft gegenüber der WaR., die in diesen Fällen 252mal negativ und 217mal zweifelhaft war. Die Rubrik 10 stellt das Umgekehrte dar. Die WaR. war 116mal stärker als die DM. und zwar 56mal positiv und 60mal zweifelhaft gegenüber der D.M., die 98mal negativ und 18mal zweifelhaft ausfiel. Bei obiger Zusammenstellung sind, ebenso wie bei den S.-G.R. Paralleluntersuchungen alle, auch die geringen, Unterschiede im Ausfall der Reaktion gerechnet worden.

Im ganzen haben wir unter 5027 Seren 585 Differenzen gefunden, also in knapp 12 Proz. der Fälle. Diese Differenzen verteilen sich nicht, wie bei der S.-G.R. und WaR. annähernd

1) Die Untersuchungen sind von meiner Mitarbeiterin, Fräulein Besser, ausgeführt worden.

gleichmäßig auf beide Reaktionen, sondern die D.M. ist der WaR. in 9 Proz. der Fälle, die Wa.-R. der D.M. um 3 Proz. überlegen. Die beiden Reihen 1 und 2 in nachfolgender Tabelle zeigen, in welchen Fällen die beiden Reaktionen divergieren.

1. Reihe: D.M. über WaR. (469 Fälle).
2. Reihe: WaR. über D.M. (116 Fälle).

Tabelle VIII.

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n	o
	Normale	Lupus	Tuberkulose	Ulcus molle	Tabes	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues behand.	Lues ohne nähere Ang.	Lues cong.	Lues ?	ohne Diagn.
1. Reihe	9	1	1	5	6	20	86	5	210	68	19	6	27	—
2. „	2	1	—	2	2	31	29	1	32	10	1	—	4	1

Zuerst fällt in Spalte a auf, daß die Normalsera nach D.M. leichter zu einer positiven Reaktion neigen als nach WaR. Ebenso stellen wir in den Rubriken g) (Lues II), i) (Lues latens), k) Lues behandelt, l) Lues, n) Lues fraglich die D.M. als die schärfere fest. Wir erkennen, daß ebenso wie bei der S.-G.R. aber noch in verstärktem Maße die D.M. gegenüber den Lues latens- und Lues behand.-Fällen entschieden empfindlicher ist als die Wa.-R. In diesem Sinne ist auch die größere Schärfe der D.M. in Rubrik b) (Lues II) aufzufassen, da es sich hier vielfach um behandelte Fälle handelt, die nach der D.M. länger positiv bleiben als nach WaR. Dagegen ist die WaR. bei Lues I (f) schärfer als die D.M., also ebenfalls ganz analog zu den Vergleichszahlen, die wir bei Lues I zwischen S.-G.R. und WaR. festgestellt haben. —

In nachstehender Tabelle sind nur die vollständigen Gegensätze zwischen positiv und negativ berücksichtigt worden.

Als positiv galt für die WaR. wieder die Zusammenziehung der Ergebnisse der verwendeten Extrakte. Bei der D.M. rechneten wir 1 Kreuz (+), auch nur bei einer Extrakt-dose, schon als positiv. Es ist bei der D.M. sehr häufig, daß

die geringste Extraktmenge ein deutliches positives Resultat gibt, die höheren Extraktmengen ein negatives ¹⁾).

Hätten wir nur die Sera als positiv gerechnet, bei denen in 2 oder 3 der verwandten Extraktkonzentrationen Fällungen eintreten, so wären die Ergebnisse der D.M. erheblich ungünstigere geworden.

Eine Zusammenstellung nach diesen Gesichtspunkten ergab unter 1027 Fällen 264 Sera, in denen die beiden Reaktionen konträr ausfielen, also in reichlich 5 Proz. aller Fälle, und zwar war D.M. in 4 Proz. positiv bei negativer WaR. und WaR. in 1 Proz. positiv bei negativer D.M. Wie sich die Differenzen verteilen, zeigt die folgende Tabelle.

2. Zusammenstellung, totale Differenzen der Resultate bei WaR. und D.M. bei obigen 5027 Seren.

1. Reihe: D.M. über WaR. bei 226 Seren }
2. Reihe: WaR. über D.M. bei 40 Seren } 266

Tabelle IX.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Normale	Ulcer molle	Tabes	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues beh.	Lues ohne nähere Ang.	Lues ?
1. Reihe	4	2	1	9	41	3	105	41	11	9
2. „	—	1	2	17	9	—	4	4	1	—

Vergleichen wir jetzt die 1. Tabelle mit den quantitativen Differenzen und die 2. Tabelle, die nur die totalen enthält, miteinander, so finden wir auch hier wieder, daß die Differenzen, die wir bei Besprechung der ersten Zusammenfassung hervorgehoben haben, sich noch verstärkt haben. Die höhere Empfindlichkeit der D.M. spricht sich noch deutlicher bei Lues II, Lues latens und Lues behandelt aus, während die größere Schärfe der WaR. bei Lues I gewahrt bleibt. Die

1) Ich möchte bei dieser Gelegenheit an ein nicht seltenes analoges Vorkommen bei der WaR. erinnern. Auch hier ist sowohl von anderen Autoren, wie auch von uns beobachtet worden, daß bei quantitativen Untersuchungen mit abgestuftem Extrakt manchmal die kleinere Extrakt-dosis stärker wirkt als die größere.

Bedeutung der Differenzen bei den einzelnen Stadien ergibt sich erst, wenn man die Zahl der Gesamtuntersuchungen mit der Anzahl der Differenzen vergleicht, was in nachfolgender Tabelle geschehen ist.

1. Reihe: Zahl der Gesamtuntersuchungen mit beiden Reaktionen bei Lues I, II, III, latens und behandelt.
2. „ Zahl der Uebereinstimmungen mit beiden Reaktionen bei Lues I etc.
3. „ D.M. über WaR. (alle auch quantitative Differenzen)
4. „ WaR. „ DM. „ „ „ „
5. „ D.M. „ WaR. (nur totale Differenzen).
6. „ WaR. „ DM. „ „ „

Tabelle X.

	Normale inkl. Tuberkulose, Lupus und Ulcus molle	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues behandelt
R. 1	905	329	900	34	1589	431
R. 2	892 ca. 98 %	278 ca. 84 %	785 ca. 87 %	28 ca. 82 %	1348 ca. 84 %	353 ca. 81 %
R. 3	9 „ 1 „	20 „ 6 „	86 „ 10 „	5 „ 15 „	210 „ 12 „	68 „ 16 „
R. 4	2 „ 0,25 „	31 „ 10 „	29 „ 2,5 „	1 „ 0,5 „	32 „ 2 „	10 „ 2,5 „
R. 5	4 „ 0,4 „	9 „ 2,5 „	41 „ 4 „	3 „ 10 „	105 „ 6 „	41 „ 10 „
R. 6	—	17 „ 5 „	9 „ 1 „	—	4 „ 0,6 „	4 „ 1 „

Wir sehen aus dieser Zusammenstellung, daß im Verhältnis zu der Gesamtuntersuchung bei den normalen Fällen die Meinickereaktion in 0,4 Proz. Fällen unspezifisch war, wenn wir von den quantitativen Differenzen absehen (Reihe 3 und 4). Die 4 nichtsyphilitischen Fälle mit positiver Reaktion setzen sich zusammen aus 1 Ulcus molle, 1 Gonorrhöe, 1 Dermatitis und 1 Lymphom.

Bei Lues I ist WaR. in 5 Proz. der untersuchten Fälle der D.M. überlegen, die D.M. ist hier in 2,5 Proz. schärfer. Bei Lues II ist die D.M. in 4 Proz. positiv bei negativer WaR. und WaR. in 1 Proz. positiv bei negativer D.M. Ueber die Prozentzahlen bei Lues III können wir hinweggehen, da das Untersuchungsmaterial zu gering ist, um daran Schlüsse zu knüpfen.

Bei Lues latens ist die D.M. in 6 Proz. der Fälle der WaR. überlegen, und bei Lues behandelt ist dasselbe sogar in 10 Proz. der Fall, während umgekehrt die WaR. der D.M. bei Lues latens nur in 0,6 Proz. und bei Lues behandelt in

1 Proz. überlegen ist. Wir sehen also, daß auch bei Berücksichtigung der Gesamtuntersuchungen die Zahlenverhältnisse der einzelnen Tabellen bestehen bleiben.

Nun wäre es noch interessant, an der Hand der Krankengeschichten solche divergierende Fälle zu verfolgen. Da die betreffenden Patienten häufig mehrmals in der Zeit, auf die sich meine Zusammenstellung bezieht, aber auch vor und nach denselben untersucht worden sind, mußte man nachforschen, ob die Blutuntersuchungen, im Zusammenhang mit der Klinik betrachtet, vielleicht irgendwelche Hinweise über die Verwendung der einen oder der anderen der 3 Methoden (WaR., S.-G.R. und D.M.) geben würden. Leider haben die diesbezüglichen Untersuchungen zu keinem neuen Ergebnisse geführt, so daß wir uns mit dem Durchsehen einiger 30 Krankengeschichten begnügt haben. Neben den schon an der Hand der Tabellen besprochenen Gesichtspunkten für die Brauchbarkeit der S.-G.R. und D.M., die auch die Krankengeschichten im allgemeinen bestätigen, finden sich häufig vereinzelte abweichende positive oder negative Resultate bei nur einer der Reaktionen, an die man keinerlei Schlüsse zu knüpfen berechtigt ist, und die eher den Eindruck machen, als wenn sie durch irgendwelche Zufälligkeiten am Versuchstage hervorgerufen sein könnten.

Vergleichende Untersuchungen von Lumbalflüssigkeiten nach D.M. und Wassermann.

Im ganzen wurden 161 Lumbalflüssigkeiten zwischen dem 31. X. 19 und 27. VI. 20 untersucht. Die folgende Tabelle zeigt das Nähere.

Tabelle XI.

1	2	3	4	5	6	7			8			9									
Anzahl der untersuchten Fälle.	Ohne Diagn.	Lues	Lues?	Paralyse	Normale	D.M. über WaR.			WaR. über D.M.			Ueberein- stimmung beider Reaktionen									
						D.M.			WaR.						WaR.			D.M.			
						+	0	?	+	0	?	+	0	?	+	0	?	+	0	?	
						161	62	75	14	8	2	17	.	7	.	22	2	2	.	2	2
						24			24			4			4						
						28															

Unter 161 Lumbalflüssigkeiten waren 75 von Luetikern stammende, 14 von fraglichen Fällen und 62 ohne Diagnose. Eine Uebereinstimmung zwischen WaR. und der D.M. stellten wir 133mal fest, d. h. in 82 Proz., und zwar bei 22 positiven, 108 negativen und 3 fraglichen Fällen. Bei den 18 Proz. Differenzen zeigte sich die D.M. der WaR. überlegen, da die D.M. 24mal stärker war als WaR., während das Umgekehrte nur 4mal der Fall war. Hierbei sind alle quantitativen Differenzen gerechnet. Heben wir auch hier nur die totalen Unterschiede zwischen + und 0 heraus und ziehen gleichzeitig die Diagnosen und die Gesamtzahl der Untersuchungen bei der Beurteilung in Betracht, so ergeben sich die Zahlen der nächsten Tabelle.

1. Reihe: Zahl der Gesamtuntersuchungen.
2. „ Zahl der Uebereinstimmungen.
3. „ D.M. über WaR. (alle, auch quantitative Differenzen).
4. „ WaR. über D.M. („ „ „ „).
5. „ D.M. über WaR. (nur totale Differenzen).
6. „ WaR. über D.M. („ „ „ „).

Tabelle XII.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Normale	Ohne Diagnose	Lues I	Lues II	Lues III	Lues latens	Lues behandelt	Tabes	Paralyse	Lues?	Lues ohne nähere Angabe
1. Reihe	3	56	3	40	1	7	9	3	6	26	7
2. „	.	55	3	26	.	5	7	2	5	25	4
3. „	3	1	.	13	.	1	1	1	1	1	2
4. „	.	.	.	1	.	1	1	—	—	—	1
5. „	2	.	.	8	.	—	1	1	—	1	2
6. „	.	.	.	—	.	—	—	—	—	—	—

Wir erkennen auch bei dieser zweiten Zusammenstellung eine größere Schärfe der D.M. besonders bei Lues II. Allerdings sind auch 2 von Nichtsyphilitikern stammende Lumbalflüssigkeiten (1 Hydrocephalus und 1 Facialislähmung) positiv. Leider reicht das nichtsyphilitische Material nicht aus, um daraus Schlüsse zu ziehen. Aber so günstig auch zunächst das Urteil über die D.M. nach unserer Statistik bei den Lumbalflüssigkeiten ausfällt, so muß es doch aus folgenden Gründen etwas eingeschränkt werden: Die Spontanausfällung der Extraktkontrollen fällt hier schwerer ins Gewicht, als bei

der Untersuchung der Seren, weil keine der Lumbalfüssigkeiten auch die von als negativ bewerteten mit Extrakt zusammen homogen erscheint. Das geübte Auge kann zwar den Unterschied zwischen der charakteristischen Fällung bei den stark positiven Fällen, und der uncharakteristischen Fällung bei allen anderen Lumbalfüssigkeiten erkennen, aber schon bei mittelstarken Ausfällungen wird die Ablesung erschwert, da man bei der Beurteilung sowohl die Spontanflockung der Extrakte wie die mangelnde Homogenität der negativen Lumbalfüssigkeiten mit in die Berechnung ziehen muß. Aus diesem Grunde erscheint es mir zurzeit noch nicht ratsam, die D.M. allein als ausschlaggebend bei Lumbalfüssigkeiten anzusehen.

Zweite Zusammenfassung¹⁾.

Die D.M. stimmt in 88 Proz. bei Seren mit der WaR. überein. Bei den 12 Proz. Divergenzen ist die D.M. in 9 Proz., die WaR. in 3 Proz. schärfer.

Die D.M. ist empfindlicher als die WaR. bei Lues II, Lues latens und Lues behandelt.

Die WaR. erweist sich stärker bei Lues I.

Bei Lumbalfüssigkeiten findet sich eine Uebereinstimmung beider Reaktionen in 81 Proz. Bei den 19 Proz. Differenzen fällt die WaR. in 3,5 Proz., die D.M. in 15,5 Proz. stärker aus; allerdings sind unter den letzteren auch zwei anscheinend nichtluetische Fälle.

Die D.M. bildet eine wertvolle Ergänzung der Resultate der WaR., da sie die Anzahl der positiven Resultate bei Lues II, Lues latens und behandelt vermehrt, und die übereinstimmenden Resultate zuverlässiger werden, wenn sie durch die gleichzeitige Untersuchung mit zwei Methoden mit verschiedenen Indikatoren und verschiedenen Fehlerquellen gewonnen werden.

Die D.M. ist zurzeit aber nur neben der WaR. zu verwerten, weil die letztere bei Lues I schärfere Resultate gibt. Außerdem wäre für die alleinige Verwendung der D.M. unbedingt eine Homogenität der zu verwendenden Extrakte erforderlich.

1) Erste Zusammenfassung siehe p. 176.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologischen Institut der Universität Jena.
(Prof. R. Rössle).]

Zur Kenntnis der Rieckenbergschen Reaktion.
(Negative Versuche zur Thromboselehre.)

Von Dr. **Marie Richter.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Januar 1921.)

Im Jahre 1917 veröffentlichte H. Rieckenberg eine neue Immunitätsreaktion bei experimenteller Trypanosomen-Infektion. Er hatte beobachtet, daß die Blutplättchen solcher Ratten, die von einer Nagana-Infektion geheilt waren, streng spezifisch gegen die zur Infektion verwendeten Erreger reagierten. Wurde nämlich das Blut der immunisierten Tiere nach Zusatz einer die Gerinnung verhindernden Zitratlösung mit den homologen Trypanosomen zusammengebracht, so näherten sich die Plättchen nach kurzer Zeit den Trypanosomen, verklebten mit ihnen, mauerten sie allmählich vollkommen ein und beraubten sie dadurch aller Beweglichkeit. Dafür, daß es sich bei diesem Vorgange nicht etwa um die gewöhnliche Agglutination in Immuneris handelt, vermochte Rieckenberg unzweideutige Beweise zu erbringen; nicht ein Klebrigwerden der Trypanosomen durch irgendwelche humorale Antistoffe verursachte die Reaktion, sondern eine streng spezifische, durch die Immunisierung erworbene Eigenschaft der Blutplättchen.

In den bekannten Versuchen von v. Gruber und Futaki liegen primäre Sonderbeziehungen zwischen Blutplättchen und einer bestimmten Infektion, nämlich dem Milzbrand, vor. Bei der Rieckenbergschen Reaktion war man zum ersten Male in der Lage, die Allergie an korpuskulären Elementen des immunisierten Körpers abzulesen; die Plättchen sind zwar nach der herrschenden Ansicht nicht vollwertigen Zellen gleichzusetzen, wohl aber nach R. Beneke als Zwischenstufe zwischen solchen und Sekreten zu betrachten. Die Rieckenbergsche Reaktion ist hierdurch von großem theoretischen

Interesse, aber es bot sich ihr gegenüber auch noch ein anderer Gesichtspunkt dar, der zwar ebenfalls wissenschaftlich, daneben aber auch besonders praktisch höchste Wichtigkeit besaß, die Frage: Sollte etwa eine Anhäufung allergischer Blutplättchen um die homologen Infektionserreger wie die bei der Rieckenbergschen Reaktion beobachtete, dann, wenn sie in der Blutbahn stattfände, eine ausschlaggebende Bedeutung besitzen für die Entstehung der so häufigen infektiösen Thrombose?

Die genetischen Beziehungen zwischen Infektion und Thrombose sind bisher nicht restlos geklärt. Zwar umfaßt Lubarsch alles Wesentliche mit der folgenden Aufzählung der drei hauptsächlichen Faktoren, durch welche die Infektion eine Entstehung von Thromben verursachen kann:

1. Die schädigende Einwirkung der Infektionserreger auf das Herz und die Kreislaufzentren;
2. Die Einwirkung der Spaltpilze auf das Blut und die blutbereitenden Organe, ganz besonders auf das Knochenmark;
3. Die Wirkung auf die Blutgefäßwandungen.

Daß diese drei Punkte zu Recht bestehen, darüber dürften sich alle Autoren einig sein, nicht aber über ihre Deutung und Wertung im einzelnen. Betreffs des zweiten Punktes betonen zwar alle, daß eine Vermehrung der Plättchen das Maßgebende sei bei der die Thrombose begünstigenden Blutveränderung durch die Infektion. Wie aber diese Vermehrung ihrerseits bedingt sei, darüber gehen die Meinungen auseinander. Manche Autoren glauben, daß sie einen durch die bakteriell-toxische Blutschädigung verursachten reichlichen Zerfall von roten Blutkörperchen ihre massenhafte Entstehung verdanken, andere stellen die Reizwirkung der Infektion auf das Knochenmark in den Vordergrund des Interesses, und sehen in der im Verlaufe von Infektionen deutlich werdenden zahlenmäßigen Vermehrung der Megakaryocyten im Blute, die der Vermehrung der Plättchen parallel geht, einen Hinweis auf die Art ihrer Entstehung infolge der Infektion. Daß sich die Blutveränderung, die sich im Laufe der Infektion vollzieht, keineswegs in dieser Plättchen-

vermehrung erschöpft, sondern daß das Blutplasma weitgehend chemisch verändert wird, einerseits durch Erhöhung des Fibrinogengehaltes, andererseits aber insbesondere durch die gebildeten Antikörper, liegt auf der Hand. Welche Beziehungen jedoch zwischen den Immunstoffen und der Thrombosebildung bestehen, ob sie hemmenden oder begünstigenden Einfluß auf sie ausüben, entzog sich bisher unserer Beurteilung. Nun warf plötzlich die von Rieckenberg beobachtete Immunitätsreaktion ein neues Licht darauf. Es erschien möglich, ja sogar wahrscheinlich, daß durch eine solche Zusammenballung der Blutplättchen um die homologen Erreger herum in manchen Fällen der letzte ausschlaggebende Antrieb zur Thrombosierung gegeben werden könne. Sollte sich das bewahrheiten, so wäre die Aetiologie der bisher in ihren Entstehungsbedingungen noch keineswegs restlos geklärten Thrombosen, die so häufig im Gefolge schwerer Infektionskrankheiten auftreten, in ein wesentlich helleres Licht gerückt. Es galt also zu untersuchen, ob ein der Rieckenberg'schen Reaktion ähnliches Verhalten der Blutplättchen auch nach Immunisierung mit Bakterien, namentlich mit den Eitererregern, auftritt.

Um dies zu entscheiden, immunisierte ich zunächst zwei Kaninchen, das eine gegen Staphylokokken, das andere gegen Streptokokken. In beiden Fällen benutzte ich Kokken, die durch Chloroform abgetötet waren. (1 ccm einer Staphylokokkenaufschwemmung in Kochsalzlösung resp. einer Bouillonkultur von Streptokokken wurde in eine Petrischale gebracht; in den Deckel derselben, ihn allseitig überragend, kam ein mit Chloroform getränktes Stück Fließpapier. Nachdem die Chloroformdämpfe mindestens 20 Minuten eingewirkt hatten, wurde die zur Injektion bestimmte Aufschwemmung resp. Bouillonkultur durch Lüftung vom Chloroform befreit, dann subkutan injiziert.) In bezug auf die Dosierung hielt ich mich an eins der Schemata, die Neisser angibt. Ich stieg bei dem ersten Kaninchen mit 5 Injektionen innerhalb von 7 Tagen von $\frac{1}{8}$ auf $\frac{1}{2}$ ccm Staphylokokkenaufschwemmung, ohne daß das Tier eine wesentliche Reaktion, weder lokaler noch allgemeiner Art, aufwies, außer leichten Temperatursteigerungen bis $38,5^{\circ}$ nach den beiden ersten Injektionen.

Nach 4-tägiger Pause, am 9., 11., 12. Okt. injizierte ich dann $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ und 1 ccm dichter Staphylokokkenaufschwemmung. Darauf war die Temperatur am 13. Okt. 38,3°. Am 23. Okt. injizierte ich 2 ccm einer dichten Aufschwemmung von Staphylokokken, die diesmal nicht abgetötet wurden. Das Tier reagierte nicht mit Temperatursteigerung und zeigte keine lokalen Entzündungserscheinungen. Blutentnahmen erfolgten zu den Versuchen am 6., 13., 18. und 25. Okt., also in allen Stadien der Antikörperbildung, zuletzt bei sicher bestehender Immunität. Ähnlich verfuhr ich mit dem zweiten Kaninchen. Ihm injizierte ich in steigenden Dosen in zwei Serien, zwischen denen 8 Tage Zwischenraum blieben, $\frac{1}{6}$ bis 1 ccm und 1—2 ccm abgetöteter Streptokokken-Bouillonkultur. Das Tier zeigte keine fieberhafte Allgemeinreaktion und auch lokal keine entzündlichen Erscheinungen. Das Blut dieser Tiere untersuchte ich nun in bezug auf das Verhalten der Blutplättchen zu Staphylokokken resp. Streptokokken.

Ich hielt mich dabei einerseits an die Versuchsanordnung, bei der Rieckenberg seinerzeit die Immunitätsreaktion der Plättchen beobachtet hatte. Ich fing in einem Schälchen, in dem sich eine bestimmte Tropfenzahl einer 4-proz. Lösung von Natrium citricum befand, die vierfache Menge Kaninchenblut, direkt aus der Ohrvene heraustropfend, auf, und vermischte sofort gründlich. Dann setzte ich zu einer Oese dieses ungerinnbar gemachten Blutes auf dem Objektträger eine Oese einer dichteren oder dünneren Aufschwemmung der zur Immunisierung benutzten Bakterien in Kochsalzlösung, bedeckte mit einem Deckglase und untersuchte mit stärkstem Trockensystem. Andererseits wandte ich, um die Blutplättchen allein, ohne die übrigen Formbestandteile des Blutes zu bekommen und vollkommen ungestört beobachten zu können, die Plättchengewinnungsmethode von R. Schneider an, die es mir gestattete, die nach Abzentrifugieren und Beseitigen der roten und weißen Blutkörperchen im Plasma suspendierten Plättchen durch weiteres Zentrifugieren auch noch vom Plasma zu trennen als ein reichliches weißes Sediment. Ich gewann so die Möglichkeit, mir ganz nach Bedarf dichte oder dünne Suspensionen von Plättchen im Plasma herzustellen. Ich untersuchte sie, mit der Bakterienaufschwemmung zusammen-

gebracht, meist im hängenden Tropfen. Bei der Menge der Bakterien und Plättchen, die jedes Gesichtsfeld enthielt, war es natürlich von vornherein zu erwarten, daß beide Bestandteile vielfach aneinander gelagert sein würden, rein aus Zufall, ohne daß daraus der Schluß auf ein spezifisches immunobiologisches Verhalten der Plättchen zu den Erregern berechtigt wäre. Es kam vielmehr darauf an, festzustellen, ob gesetzmäßig nach dem Zusammenbringen von Plättchen und Erregern sich enge Beziehungen zwischen beiden herstellen würden. Hierzu leistete es mir gute Dienste, daß es mir möglich war, die Dichte der Plättchensuspensionen ebenso wie die der Bakterienaufschwemmungen beliebig zu variieren. Beim Zusammenbringen etwa gleich dichter Suspensionen von Plättchen und Staphylokokken sah ich zwar mehrfach Aneinanderlagerungen zwischen beiden, mindestens ebenso oft aber blieben sie räumlich getrennt, obwohl sie sich doch so nahe aneinander befanden, daß chemotaktische Einwirkung die Zwischenräume mit Leichtigkeit zu überbrücken imstande gewesen wäre. Zudem konnte ich in jedem Präparat unzählbar oft sehen, wie die durch lebhaft molekulare Bewegung herumgewirbelten Staphylokokken den Plättchen genähert und angelagert, dann wieder von ihnen entfernt wurden. War das Deckglaspräparat noch so frisch, daß die Ausgleichsströmungen darin noch nicht zum Stillstand gekommen waren, und suchte ich mir eine Stelle, wo die schwereren Plättchen sich schon gesenkt hatten und seßhaft geworden waren, und so, mit geringen Zwischenräumen nebeneinander liegend, in ihrer Gesamtheit gleichsam eine Barrikade bildeten für die Staphylokokken, die noch im Strome fluteten, so sah ich, daß die Bakterien zwar durch die Plättchenansammlung wesentlich aufgehalten wurden, daß sie sich anscheinend mit Mühe hindurchzwängen mußten, daß sie aber dann doch wieder in Freiheit gelangten, obwohl die Bedingungen für eine bleibende Aneinanderlagerung denkbar günstig gewesen waren: Es war genügend Zeit vorhanden gewesen zu gegenseitiger Beeinflussung, und die räumlichen Beziehungen innig genug dafür. Die Strömung in dem Präparat war auch durchaus nicht so stark, daß sie während der Berührung zwischen Plättchen und Kokken entstandene Verbindungen hätte auseinanderreißen können. Daß

schließlich beim Festwerden der Deckglaspräparate durch Verdunstung stellenweise Plättchenhaufen und Staphylokokken eng benachbart liegen blieben, besagt nichts für eine Immunitätsreaktion, sondern ist dadurch bedingt, daß bei der allmählichen Austrocknung die Plättchen haarähnliche Fortsätze bekamen, zwischen denen sich die Staphylokokken verfangen hatten.

Setzte man zu einer großen Menge von Plättchen wenige Staphylokokken zu, so sprachen alle Bilder mit Sicherheit gegen das Bestehen gesetzmäßiger Beziehungen zwischen beiden. Trotzdem die Plättchen so bedeutend in der Uebersahl waren, daß sie alle Staphylokokken besetzt haben mußten, wenn sie im Verlaufe der Immunisierung eine Affinität zu ihnen erworben gehabt hätten, blieben viele Staphylokokken frei. Ich beobachtete mehrmals, wie einzelne Bakterien an Plättchenhaufen heranwirbelten, sich mühsam zwischen den Plättchen hindurchzwängten und dann nach längerer Zeit innigster Berührung wieder vollkommen frei machten.

Setzte ich umgekehrt zu vielen Staphylokokken wenig Plättchen hinzu, so wäre zu erwarten gewesen, daß jedes der spärlichen Plättchen von Staphylokokken beschlagnahmt gewesen wäre, falls anziehende Kräfte zwischen den beiden vorhanden gewesen wären. Ich sah dagegen viele Plättchen allein liegen, obwohl oft nahe genug an Staphylokokken, daß eine Einwirkung möglich gewesen wäre. Die Untersuchungen im hängenden Tropfen ergaben ganz entsprechende Bilder. Seitdem ich die Plättchengewinnungsmethode von R. Schneider beherrschte, erhielt ich auch bei ihrer Anwendung vollkommen intakte Blutplättchen, homogene, scharfrandige Scheibchen, während ich vorher alle möglichen Schrumpfs- und Quellungsformen, namentlich oft die sogenannte Bläschenform, zu sehen bekommen hatte. Daß ich auf die Resultate solcher Präparate mit vielen geschädigten Plättchen nichts geben durfte, liegt auf der Hand. Waren aber die im extravasierten Blute sehr empfindlichen Plättchen in ihrer Form intakt, so war wohl die Annahme erlaubt, daß auch ihre Fähigkeit, zu reagieren, nicht verloren gegangen sein würde während der Reingewinnung, zumal von Klemensiewicz seinerzeit nachgewiesen worden ist, daß sogar jene oben be-

schriebenen „viskös metamorphosierten“ Plättchen noch nicht reaktionslos geworden, abgestorben sind, sondern z. B. auf elektrische Reizung durchaus noch ansprechen. Auch im hängenden Tropfen, wo doch sowohl Plättchen wie Bakterien noch mehr wie im Deckglaspräparat die Möglichkeit hatten, ganz frei und ungehindert aufeinander einzuwirken und sich zueinander hin zu bewegen, auch hier sah ich trotz naher und genügend langer Berührung zwischen ihnen keine Beziehungen wie die bei der Rieckenbergschen Immunitätsreaktion beobachteten sich herausstellen. Daß auch Zusammenballungen der Plättchen unter sich nicht erkennbar waren, spricht dafür, daß Immunisierung auch nicht auf diesem Wege, durch Erhöhung der Agglutinationsfähigkeit der Plättchen unter sich, zur Entstehung der infektiösen Thrombose mithilft.

Die Versuche, die ich mit dem Blute des gegen Streptokokken immunisierten Tieres machte, waren noch bedeutend leichter zu deuten; ich konnte mit noch größerer Sicherheit sagen, daß sich keine gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Plättchen und Bakterien herstellten.

Meine Versuche, die leider nicht auf Menschen ausgedehnt werden konnten, ergeben somit keinen Anhaltspunkt dafür, daß die Immunität als solche durch eine spezifische Reaktion der Blutplättchen die Entstehung von Thrombose begünstigte. Sie sind vielleicht noch für die Frage nach der formalen Genese der Thrombose von einer gewissen Wichtigkeit. In der Rieckenbergschen Reaktion nämlich hätte man eine Stütze sehen können für jene Ansicht, daß bei der ersten Entstehung von Thromben den Blutplättchen die primäre Rolle zuzuschreiben sei. Es war naheliegend, die Rieckenbergsche Reaktion bei den ersten Anfängen der infektiösen Thrombose realisiert zu denken, falls diese überhaupt darin besteht, daß an der Stelle des Einbruchs der Infektion ins Blut die Gefäßinnenfläche mit Blutplättchen sich beschlägt; die Abdeckung, Verschüttung und Festklebung der Infektionserreger durch Plättchen würde einen wirksamen spezifischen Schutz vor der Allgemeininfektion gewähren.

Ein wesentlicher Beitrag zur Genese und zum Wesen der Thrombose wäre also mit dem Nachweis gegeben gewesen,

daß die Rieckenbergsche Reaktion der Blutplättchen gegenüber spezifischen Infektionen eine allgemeine Gültigkeit hat. Bekanntlich wird die Anschauung, daß die Blutplättchenablagerung an der Gefäßwand die Entstehung der Thrombose einleite, von einer großen Zahl von Forschern vertreten (Eberth-Schimmelbusch, Zahn, Loeb). Wenn auch die vorliegenden negativen Versuche nichts gegen diese Anschauung beweisen und nichts für diejenige von Klemensiewicz, wonach die Abscheidung einer zarten Fibrinmembran den ersten Anfang der intravaskulären Abscheidung aus dem Blute ausmacht, so verlohnte sich vielleicht wegen der prinzipiellen Wichtigkeit der Fragestellung die Mitteilung unserer negativen Versuche, zumal es heute auch angebracht erscheint, durch solche Mitteilung von der Inangriffnahme vergeblicher Versuche abzuhalten.

Zusammenfassung.

1) Die Rieckenbergsche Reaktion besteht in einer spezifischen Zusammenballung der Blutplättchen um Trypanosomen bei Tieren, welche Trypanosomeninfektion überstanden haben.

2) Es wurde geprüft, ob die Rieckenbergsche Reaktion auch bei gewöhnlichen Allgemeininfektionen mit Strepto- und Staphylokokken zustande kommt; sie würde im bejahenden Fall eine große Bedeutung für die Erklärung des Zustandekommens der infektiösen Thrombose, ja der Thrombose überhaupt haben.

3) Die angestellten Versuche ergaben, daß bei Kaninchen, die mit Strepto- oder Staphylokokken vorbehandelt sind, keine Reaktionen zwischen Blutplättchen und Erregern im Sinne der Rieckenbergschen Reaktion nachgewiesen werden können.

Literatur.

- H. Rieckenberg, Eine neue Immunitätsreaktion bei experimenteller Trypanosomeninfektion: die Blutplättchenprobe. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, Bd. 26, Heft 1.
- R. Beneke, Thrombose und Embolie. Krehl-Marchard, *Handb. d. allgem. Path.*, Bd. 2, II.
- O. Lubarsch, Thrombose und Embolie. *Jahreskurse f. ärztl. Fortbildung*, 1916, I.
- Thrombose und Infektion. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1918, p. 225.
- Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.*

194 Marie Richter, Zur Kenntnis Rieckenberg'schen Reaktion.

P. Th. Müller, Vorlesungen über Immunität. Jena, G. Fischer.

R. Klemensiewicz, Ueber die erste Anlage des Thrombus. Ziegler's Beitr., Bd. 63, Heft 2.

Zahn, Untersuchungen über Thrombose. Bildung von Thromben. Virch. Arch., Bd. 96 und 102.

Eberth-Schimmelbusch, Experimentelle Untersuchungen über Thrombose. Virch. Arch., Bd. 103, 105, 108.

Loeb, Ueber die Bedeutung der Blutkörper für die Gerinnung. Virchow's Arch., Bd. 173, 176.

Gruber und Futaki, Ueber die Resistenz gegen Milzbrand. Münch. med. Wochenschr., 1907.

Ottolenghi, Blutplättchen als Alexinerzeuger. Münch. med. Wochenschrift, 1907.

R. Schneider, Arch. f. Hyg., Bd. 70; Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 10.

P. Kaestner, Protozoen als Erreger von Krankheiten bei Tieren. Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse, XI, 1906.

Morgenroth, Serumtherapie und Chemotherapie. Jahreskurse f. ärztl. Fortbildung, 1916, I.

Neisser, Allgemeines über bakterielle Antigene. Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung, herausg. von Kraus und Levaditi.

Nachdruck verboten.

Die Prüfung der Alkalität in Nährböden.

Von **L. Michaelis.**

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Januar 1921.)

Das praktische Bedürfnis nach einer zuverlässigen Bestimmung der Alkalität der Nährböden auf Grund der modernen Definition derselben dürfte wohl anerkannt werden. Es ist nicht rationell, die Alkalität in der bisher bei den Bakteriologen üblichen Weise anzugeben, d. h. durch die Angabe, wieviel Kubikzentimeter n. HCl sie vom sogenannten Neutralpunkt des Phenolphthaleïn entfernt ist, sondern durch die Konzentration der Wasserstoffionen, die Wasserstoffzahl $[H^+]$ bzw. den Wasserstoffexponenten p_H . In Deutschland haben sich die Bakteriologen mit dieser Frage noch kaum beschäftigt.

Ein Blick auf die Arbeiten von Clark¹⁾ und Dernby²⁾ zeigt aber sofort, wie sehr die Beherrschung dieser Methoden praktische Bedeutung für die Züchtung von Bakterien hat. Schon im Verlaufe meiner früheren Arbeiten hatte ich Gelegenheit, die Wichtigkeit der p_H -Bestimmung für die Bakteriologie zu zeigen, erstens bei der Beschreibung der Säureagglutination³⁾, zweitens bei der Frage nach der maximalen Säuerung, welche Zucker vergärende Bakterien in einem zuckerhaltigen Nährboden hervorbringen⁴⁾. Die Wichtigkeit einer passenden Alkalität des Nährbodens für das Wachstum von Bakterien ist seit langem bekannt. Manche Bakterien erlauben einen ziemlichen Spielraum der Alkalität, andere aber, wie die Pneumokokken, sind in bezug auf genau passende Alkalität sehr anspruchsvoll. Es war daher gegeben, die ganze Frage der Alkalität der Nährböden auf Grund der modernen Prinzipien zu bearbeiten. Diese Prinzipien hier zu erörtern, würde zu weit führen; ich verweise auf meine 1914 erschienene Monographie⁵⁾.

Die Methode der Wasserstoffkonzentrationsketten, die ich in den früheren Arbeiten anwendete, ist zu kompliziert, um sich allgemein in bakteriologischen Laboratorien einbürgern zu können. Die genannten Autoren haben sich deshalb der einfacheren Indikatorenmethode von Sørensen bedient, und Clark hat diese durch Einführung einer Reihe ganz ausgezeichneten Indikatoren bereichert. Die für diese Methode erforderliche Herstellung von Pufferlösungen, sei es in der ursprünglichen Form von Sørensen, sei es in der Form von Clark, insbesondere die Herstellung und Aufbewahrung der kohlensäurefreien NaOH erfordert aber immerhin ein sehr präzises, quantitatives, chemisches Arbeiten, welches in unseren bakteriologischen Laboratorien nicht gerade geläufig ist. Ich

1) W. Mansfield Clark, The Determination of Hydrogen Ions, Baltimore 1920 (gleichzeitig erschöpfende Literaturquelle!).

2) K. G. Dernby, Journ. exp. Med., Vol. 28, 1918 p. 345.

3) L. Michaelis, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 21.

4) L. Michaelis und F. Marcora, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, p. 170.

5) L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, Berlin 1914.

habe nun vor kurzem¹⁾ eine Indikatorenmethode ausgearbeitet, welche dieser Pufferlösungen nicht bedarf, und möchte hiermit ihre spezielle Anwendung für die bakteriologische Praxis beschreiben. Wie ich nachträglich gesehen habe, hat kurz vor mir Gillespie²⁾ ebenfalls eine Indikatorenmethode ohne Puffer beschrieben. Er verwendet dazu die Clarkschen Indikatoren, welche sämtlich zweifarbig sind, d. h. von Gelb nach Rot oder Blau umschlagen, während bei meiner Methode nur mit einfarbigen Indikatoren gearbeitet wird, welche von farblos nach gefärbt (meist Gelb) umschlagen. Zwar sind die Clarkschen Indikatoren farbenprächtiger, jedoch bietet sich durch die Anwendung einfarbiger Indikatoren ein wesentlicher technischer Vorteil, eine Vereinfachung der Methode, ohne daß sie deshalb ungenauer wird. Einfarbige Indikatoren für das erforderliche Bereich von p_H waren vordem nicht in genügender Anzahl bekannt. Ich glaube aber ihre Zahl, besonders durch die Einführung des m-Nitrophenol, so erweitert zu haben, daß sie den praktischen Bedürfnissen genügen.

Ich will das Prinzip der Methode nur in Kürze beschreiben und verweise im übrigen auf meine ausführliche Publikation¹⁾. Die Beschreibung soll an der Hand eines praktischen Beispiels geschehen, welches ich der Einübung halber zur genauen Nachahmung empfehle.

Es sei die Aufgabe gestellt, p_H in frischem, nicht abgestandenem Wasserleitungswasser zu messen. Die erforderlichen Reagenzien und Utensilien sind folgende:

- 1) 6 bis 7 Reagenzgläser von möglichst gleichem Kaliber.
- 2) Eine Lösung von 0,3 g m-Nitrophenol in 100 ccm destilliertem Wasser. Die Lösung wird unter mäßigem Erwärmen hergestellt und ist unbegrenzt haltbar. Die Substanz kann jetzt von Kahlbaum bezogen werden.
- 3) Eine frisch hergestellte Verdünnung von etwa 2 bis 4 ccm n. NaOH auf 200 ccm destillierten Wassers. Diese Verdünnung ist nur einen Tag lang haltbar.
- 4) Einige graduierte Pipetten zu 10 und zu 1 ccm.

1) L. Michaelis und A. Gyemant, Biochem. Zeitschr., Bd. 109, 1920, p. 165.

2) L. J. Gillespie, Journ. Americ. Chem. Soc., Vol. 42, 1920, p. 742.

Die Ausführung der Bestimmung ist folgendermaßen:

1) 10 ccm frisches Leitungswasser werden in einem Reagenzglas mit 0,5 ccm der Indikatorlösung versetzt und 3 bis 4 Minuten sich selbst überlassen.

2) Man stellt von der Indikatorlösung eine 20-fache Verdünnung mit der Lauge her (also 1 ccm + 19 ccm Lauge), bringt hiervon 1 ccm in ein Reagenzglas und füllt dieses mit der (indikatorfreien) Lauge auf das gleiche Volumen, also auf 10,5 ccm auf.

3) In derselben Weise stellt man einige andere Indikatorverdünnungen her, indem man von der soeben hergestellten 20-fachen Indikatorverdünnung ausgeht; z. B. je ein Glas mit 1,2, 1,4, 0,8, 0,6 ccm, aufgefüllt immer mit der Lauge auf ein Volumen von 10,5.

4) Nun sucht man diejenige Indikatorverdünnung heraus, welche die gleiche Farbtiefe hat, wie das Leitungswasser. Man hält neben das Glas mit dem Leitungswasser immer nur je ein Röhrchen und betrachtet es bei gutem Tageslicht gegen einen Untergrund von weißem Schreibpapier. Am besten blickt man von oben durch die ganze Länge der Röhrchen.

5) Das Verhältnis der Indikatormenge des als farbgleich betrachteten Laugenröhrchens zu der Indikatormenge im Leitungswasser nennen wir den Farbgrad, F . Aus diesem kann man p_H unmittelbar berechnen. Statt der Rechnungen soll hier in Tabellenform p_H gleich angegeben werden. Die Tabellen sollen für folgende Indikatoren gegeben werden:

- | | | |
|----------------------------|--------------------|---|
| 1. α -Dinitrophenol | für p_H 2,7— 4,7 | gesättigte, wässrige Lösung. |
| 2. p-Nitrophenol | „ „ 4,7— 7,2 | 0,1-proz. wässrige Lösung. |
| 3. m-Nitrophenol | „ „ 6,6— 8,7 | 0,3-proz. wässrige Lösung. |
| 4. Phenolphthaleïn | „ „ 8,4—10,3 | 0,1 g in 75 ccm Alkohol + 175 ccm Wasser. |

Gewöhnlich wird man in unserem Uebungsbeispiel finden, daß das Röhrchen mit 1 ccm des 20-fach verdünnten Indikators farbgleich ist mit dem Röhrchen mit dem Leitungswasser + 0,5 ccm unverdünntem Indikator. F ist also = 0,10 und somit $p_H = 7,4$.

Streng genommen gelten diese Werte nur für eine Temperatur von 18° ; aber die Abweichungen bei etwas anderer

Tabelle.

α -Dinitrophenol		p-Nitrophenol		m-Nitrophenol		Phenolphthalein	
F	p _H	F	p _H	F	p _H	F	p _H
0,81	4,7	0,50	7,2	0,69	8,7	0,80	10,3
0,72	4,5	0,44	7,1	0,63	8,6	0,75	10,2
0,61	4,3	0,39	7,0	0,57	8,5	0,70	10,1
0,51	4,1	0,34	6,9	0,52	8,4	0,65	10,0
0,41	3,9	0,29	6,8	0,47	8,3	0,60	9,9
0,35	3,7	0,24	6,7	0,42	8,2	0,55	9,8
0,25	3,5	0,20	6,6	0,36	8,1	0,50	9,7
0,17	3,3	0,167	6,5	0,30	8,0	0,45	9,6
0,12	3,1	0,135	6,4	0,26	7,9	0,40	9,5
0,076	2,9	0,111	6,3	0,23	7,8	0,34	9,4
0,041	2,7	0,091	6,2	0,18	7,7	0,27	9,3
		0,073	6,1	0,15	7,6	0,21	9,2
		0,060	6,0	0,12	7,5	0,16	9,1
		0,049	5,9	0,10	7,4	0,12	9,0
		0,039	5,8	0,080	7,3	0,09	8,9
		0,030	5,7	0,066	7,2	0,069	8,8
		0,025	5,6	0,054	7,1	0,047	8,7
		0,020	5,5	0,043	7,0	0,030	8,6
		0,014	5,4	0,034	6,9	0,014	8,5
		0,013	5,3	0,027	6,8	0,01	8,45
		0,010	5,2	0,022	6,7		
		0,0078	5,1	0,018	6,6		
		0,0063	5,0				
		0,0051	4,9				
		0,0040	4,8				
		0,0032	4,7				

Temperatur betreffen nur die zweite Dezimale von p_H und können für unsere Zwecke unbedenklich vernachlässigt werden.

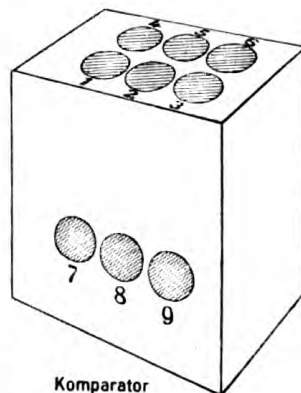
Bei der Anwendung der Methode auf Nährbouillon ist nun die Schwierigkeit zu überwinden, daß die Erkennung der Farbtiefe durch die Eigenfarbe der Bouillon gestört wird. Diese Schwierigkeit kann aber leicht restlos überwunden werden, und zwar durch die Kombination zweier Kunstgriffe. Der erste ist die Verdünnung der Bouillon mit 0,85-proz. NaCl-Lösung. Da nämlich die Nährböden infolge ihres Gehaltes an Pepton und Phosphaten den Charakter von Pufferlösungen haben, kann man sie verdünnen, ohne daß sich p_H ändert. Als Verdünnungsflüssigkeit eignet sich aus theoretischen Gründen am besten eine etwa 0,85-proz. NaCl-Lösung. Durch diese wird bewirkt, daß beim Verdünnen der Gesamtsalzgehalt der Lösung annähernd gleichbleibt. Von der Richtigkeit dieser theoretisch vorauszusehenden Tatsache kann man sich durch folgenden Versuch überzeugen:

Frisch ausgekochte, wieder abgekühlte Nährbouillon, elektrometrisch gemessen, gibt	p _H = 7,05
Dieselbe Bouillon mit 3 Teilen 0,85-proz. NaCl-Lösung verdünnt, gibt	p _H = 7,06
Dieselbe Bouillon mit 6 Teilen 0,85-proz. NaCl-Lösung verdünnt, gibt	p _H = 7,06
Parallelbestimmung mit m-Nitrophenol als Indikator nach der unten beschriebenen Methode nach Verdünnung mit 3 Teilen NaCl-Lösung gibt	p _H = 7,05

Aber die Verdünnung vermindert nur die Farbe, beseitigt sie nicht völlig. Es ist noch ein zweiter Kunstgriff erforderlich, das Walpolesche Prinzip.

Dieses Prinzip, 1910 von Walpole¹⁾ beschrieben, hat inzwischen in England und Amerika eine weite Verbreitung gefunden, in Deutschland ist es noch wenig angewendet worden, mit Ausnahme von Lüers²⁾, der es in sehr zweckmäßiger Weise bei der alkalimetrischen Titration gefärbter Flüssigkeiten, wie Bier usw., benutzt hat.

Für unsere Zwecke eignet sich vorzüglich eine Form des „Komparators“, die Hurwitz, Meyer und Ostenberg³⁾ angegeben haben, und die ich dem Buch von Clark³⁾ entnehme. Das von mir benutzte Modell hat folgende Form: Ein Holzblock in Form eines Parallelipeds, 8,5 cm hoch, 9 cm breit, 4,5 cm tief, wird, wie in der Abbildung, zylindrisch ausgebohrt, die Löcher 1 bis 6 sind in 2 Reihen, 1—3 und 4—6 hintereinander angeordnet. Die Löcher sind zylindrisch bis zu einer Tiefe von 8,5 cm eingebohrt und sind so breit, daß ein gewöhnliches Reagenzglas eben gerade bequem in sie hineingesteckt werden kann. Durchmesser 1,75 cm. Die Löcher 7—9 sind senkrecht durch den ganzen Holzblock gebohrt und überkreuzen je 1 vorderes und hinteres der Reagenzglaslöcher. Ihr Durchmesser ist etwas kleiner als der der anderen, 1,3 cm. Sie sind zum Durch-



1) Walpole, Biochem. Journ., Bd. 5, 1910, p. 207.

2) Lüers, H., Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, Bd. 37, 1914, p. 39.

3) Proc. Soc. Exp. Biol. Med., Vol. 13, 1915, p. 34. Zitiert nach W. M. Clark, The Determination of Hydrogen Ions, Baltimore 1920.

blicken bestimmt und man blickt durch jedes Loch durch 2 Reagenzgläser hintereinander. Der ganze Kasten, besonders die Innenseite der Löcher, wird geschwärzt. Der Apparat wird auf meine Veranlassung von E. Leitz, Berlin, Luisenstr. 45, angefertigt.

Die Ausführung der p_H -Bestimmung gestaltet sich folgendermaßen. Zunächst sucht man sich eine Reihe von Reagenzgläsern aus, welche möglichst genau gleiches Volumen haben, indem man eine Reihe von Reagenzgläsern mit je 10 ccm Wasser füllt, und diejenigen mit gleichem Niveaustand aussucht. Nun steckt man ein Reagenzglas in Loch 2 und füllt 2 ccm Bouillon und 4 ccm 0,85 NaCl-Lösung ein. Dazu gibt man eine bestimmte Menge m-Nitrophenollösung (0,3-proz. Lösung), welche geeignet ist, eine für die Abschätzung angenehme Farbtiefe zu erzeugen. In der Regel ist 1 ccm die geeignete Menge. In das Loch 5 steckt man ein Reagenzglas mit Wasser. In das Loch 3 füllt man 2 ccm Bouillon, 4 ccm NaCl-Lösung und dann noch so viel NaCl-Lösung als in dem Glas No. 2 Indikator hinzugefügt worden war, also 1 ccm. Das Loch 6 ist für die verschiedenen Indikatorverdünnungen bestimmt. Diese stellt man auf folgende Weise her. Man verdünnt in einem Meßzylinder 8—10 ccm nNaOH auf 200 ccm mit destilliertem Wasser. Von dieser Lauge mischt man 9 ccm mit 1 ccm m-Nitrophenollösung. Von dieser Indikatorverdünnung gibt man 1 ccm in ein Reagenzglas in Loch 6 und füllt mit der verdünnten Lauge bis zu dem Volumen des Glases 2 bzw. 3 auf. Nun blickt man durch die Löcher 8 und 9, indem man das Loch 7 mit dem Daumen verschließt und als Griff benutzt. Man blickt entweder gegen eine breite, gleichmäßige Himmelsfläche oder gegen einen reinen, weißen Bogen Schreibpapier, der auf dem Tisch liegt, noch besser gegen eine von diffusem Himmelslicht beleuchtete Mattscheibe. Je nach dem Befund wechselt man nun das Glas No. 6 gegen ein anderes aus, welches bei gleichem Gesamtvolumen eine andere Menge Indikator enthält, bis man diejenige Indikatormenge gefunden hat, welche Farbgleichheit ergibt. Es ist sehr zu empfehlen, eine passend gewählte durchsichtige Blauscheibe vor die oben erwähnte Mattscheibe zu setzen. Hierdurch werden die Quantitätsunterschiede der verschiedenen Gelbtöne in Farbqualitätsunterschiede,

von Blau über Grün nach Gelb, umgewandelt. Diese faßt das Auge müheloser auf. Der optische Vorteil der zweifarbigen Indikatoren wird durch diesen Kunstgriff auch auf die einfarbigen Indikatoren übertragen. Der nach meinen Angaben angefertigte Komparator trägt eine einfache Schiebervorrichtung zum Vorschalten der Matt- und Blauscheibe; geeignete Scheiben werden mitgeliefert. Die Löcher 1 und 4 sind dazu da, um auf Wunsch ebenso wie die Löcher 3 und 6 benutzt zu werden. Man kann so gleichzeitig 2 verschiedene Indikatormengen mit der Bouillon vergleichen. Ich mache jedoch hiervon wenig Gebrauch.

Zur Messung von Nährböden kommt man allein mit m-Nitrophenol aus. Man kann nun die Methode noch wesentlich einfacher dadurch gestalten, daß man die Indikatorverdünnungen nicht jedesmal frisch bereitet, sondern eine kleine Serie vorrätig hält. Die Verdünnungen sind nämlich bei geeigneter Herstellungs- und Aufbewahrungsweise sehr lange haltbar. Als Verdünnungsflüssigkeit benutzt man statt der schlecht haltbaren Lauge eine 0,1 n-Sodalösung. (Auf genauen Titer kommt es nicht an.) Diese Lösungen werden in folgender Weise hergestellt. Man bereitet sich zunächst eine 10-fache Verdünnung der 0,3-proz. m-Nitrophenollösung in 0,1 n-Sodalösung. Von dieser gibt man in einer Reihe von 9 Reagenzgläschen

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ccm	0,27	0,43	0,66	1,0	1,5	2,3	3,0	4,2	5,2

und füllt jedes mit der Sodalösung auf 7 ccm auf. Man verschließt die Gläser mit einem Korken und Paraffin und hält sie bei Nichtbenutzung stets im Dunkeln. Dann sind sie unverändert fast unbegrenzt haltbar.

Eine pH-Bestimmung in Bouillon besteht nun einfach in folgenden Handgriffen:

1) In das Loch No. 2 des Komparators stellt man ein Reagenzglas mit 2 ccm Bouillon, 4 ccm NaCl-Lösung und 1 ccm der 0,3-proz. Stammlösung des m-Nitrophenol.

2) In das Loch No. 3 bringt man ein Glas mit 2 ccm Bouillon + 5 ccm NaCl-Lösung.

3) In das Loch No. 5 bringt man ein Glas mit beliebig viel Wasser.

4) Man probiert aus, welche der obigen 9 Indikatorverdünnungen man in das Loch No. 6 stecken muß, damit Farbgleichheit entsteht, unter Benutzung der Mattscheibe und Blauscheibe.

Die 9 Röhrchen geben folgende p_H an:

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
p_H	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0	8,2	8,4

Mit diesen p_H -Angaben kann man die 9 aufzubewahrenden Röhrchen gleich etikettieren.

Die ganze Bestimmung ist auf diese Weise in einer Minute ausgeführt, und erfordert nicht einmal so viel Mühe wie eine Titration; sie erfordert kaum mehr Arbeit, als die einfache Prüfung mit Lackmuspapier und leistet an Genauigkeit alles, was praktisch erforderlich ist. Sie kann ebenso auch für Agar und Gelatine angewendet werden.

Nun noch einige Worte über die Herstellung von Nährbouillon mit abgestufter Alkalität. Die übliche Alkalisierung von Bouillon mit Sodalösung ist nicht gerade die geeignete, wenn es sich darum handelt, eine Bouillon von scharf eingestelltem p_H herzustellen. Bei dem p_H der Bouillon verwandelt sich Soda in ein Gemisch von Natriumbikarbonat und freier Kohlensäure. Karbonathaltige Puffer sind aber wegen der Flüchtigkeit der CO_2 nicht gerade zur genauen und haltbaren Einstellung von p_H zu empfehlen. Folgendes Verfahren erscheint mir zweckmäßig, um Bouillons von genau definiertem p_H zu erhalten. Von den 5 g NaCl, die man nach der gewöhnlichen Vorschrift auf einen Liter Bouillon hinzugibt, ersetzt man 2 g durch gewöhnliches, käufliches (sekundäres) Natriumphosphat. Nach dem Sterilisieren korrigiert man dann die gewünschte Reaktion durch tropfenweisen Zusatz von gewöhnlicher, starker offizineller NaOH bzw. HCl. Eine so eingestellte Bouillon ändert ihre Alkalität beim weiteren Sterilisieren nicht mehr. Die theoretische Begründung für dieses Verfahren wird jeder, der sich mit der Theorie der H-Ionen beschäftigt hat, ohne weiteres verstehen.

Es ist nicht der Zweck dieser Mitteilung, auf die Wachstumsbedingungen der verschiedenen Bakterien einzugehen. Einige Bakterien sind auch nicht sehr anspruchsvoll in bezug auf p_H . Ein sehr lehrreiches Beispiel aber für die Wichtigkeit von p_H sind die Pneumokokken, wie

Dernby gefunden hat. Ich kann seine Befunde vollkommen bestätigen. Dernby fand ein Optimum des Wachstums bei $p_H = 7,9$. Bei 7,0, wobei z. B. Streptokokken, Typhus, Colibacillen und andere noch sehr gut wachsen, vermehren sich Pneumokokken überhaupt nicht mehr. Ein Versuch zeigte z. B. folgendes: 5 Proben Bouillon.

No.	p_H vor dem Sterilisieren	nach d. 3maligen Sterilisieren	nach 48-stündigem Wachstum von Pneumokokken	Wachstum der Pneumokokken
1	6,95	6,9	6,9	kein Wachstum
2	7,1	7,1	7,1	dgl.
3	7,35	7,3	7,25	sehr spärlich
4	7,5	7,45	7,45	mäßig
5	7,75	7,65	7,5	gut

Dagegen Streptokokken zeigten gleichmäßig gutes Wachstum in Bouillon von folgendem p_H : 1) 6,8; 2) 6,95; 3) 7,1; 4) 7,25; 5) 7,4.

Ueber „Dauerreihen“ für andere p_H -Bereiche mit anderen Indikatoren soll nächstens berichtet werden.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, welche in einfachster und schnellster Weise durch eine Farbenvergleichen mit einem geeigneten Indikator die aktuelle Alkalität eines Nährbodens zu bestimmen gestattet.

Nachdruck verboten.

Ist das Anaphylatoxin charakterisiert durch eine eigenartige Flockungsphase des Serums?

(Erwiderung auf die Ausführungen von Friedberger und Putter [diese Zeitschr., Bd. 30, Heft 3/4, p. 321]).

Von **Hermann Dold**, Frankfurt a. M.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. Januar 1921.)

Nachdem ich in einer früheren Arbeit (Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 3) allgemein auf die Möglichkeit hingewiesen hatte, die Struktur der Körpersäfte (Sera etc.) und etwaige Strukturveränderungen derselben im Agglutinoskop von Kuhn und Woithe, also bei einer Art

Tyndallbeleuchtung mit Lupen- und eventuell stärkeren Vergrößerungen zu beobachten (Seroskopie), untersuchte ich mit Hilfe dieser neuen Methode speziell auch die etwaigen Strukturveränderungen, welche sich in den Seren nach Einsaat von Bakterien abspielen¹⁾. Man hat sich bisher zwar eingehend mit den morphologischen Veränderungen, welche die Bakterien unter dem Einfluß von Seren und anderen normalen Körpersäften erleiden, beschäftigt, hat aber bisher meines Erachtens die Frage, welche Veränderungen die Körpersäfte und speziell Sera in struktureller (mikro-morphologischer) Beziehung unter der Einwirkung der verschiedenen Mikroben und anderer Agentien erfahren, etwas vernachlässigt.

Durch die Arbeiten von Friedberger und seinen Mitarbeitern sind wir mit der hochinteressanten Tatsache bekannt geworden, daß an sich ungiftige arteigene Normalsera, insbesondere das Meerschweinchenserum, nach der Einsaat der meisten bekannten Mikroben vorübergehend stark giftig werden (Anaphylatoxinbildung). Durch zahlreiche Versuche an einem großen Tiermaterial sind die Bedingungen, unter denen dieses Gift (dieser giftige Zustand) entsteht und wieder verschwindet, endgültig darf man wohl sagen, ermittelt worden. Meine Aufgabe bestand darum zunächst nur darin, zu beobachten, ob etwa unter den gleichen Bedingungen, unter denen bekanntermaßen das Gift auftritt bzw. verschwindet, eine Strukturveränderung der Sera erkennbar in die Erscheinung trete bzw. verschwinde. War diese Annahme richtig, war also ein weitgehender Parallelismus zwischen den Bedingungen für das Vorhandensein des Giftes einerseits und den Bedingungen für das Vorhandensein der fraglichen Strukturveränderung des Serums andererseits nachweislich, so war man wohl berechtigt, eine Beziehung zwischen dem Auftreten des Giftes und der Strukturveränderung anzunehmen und zu sagen, daß das Gift durch die Strukturveränderung einigermaßen charakterisiert sei (Archiv f. Hyg., 1919, Heft 1/3).

1) Cfr. H. Dold, Arch. f. Hyg., Bd. 89, 1919, H. 1/3, und Bd. 89, 1920, H. 7/8; ferner H. Dold, Die Ausflockung der Sera durch Bakterien und die allgemeine serologische Bedeutung dieser Erscheinung. Med. Klinik, 1921, No. 2.

Ehe ich die von mir beobachteten Uebereinstimmungen aufzähle, sei eine Bemerkung über die von mir aus praktischen Gründen vorgenommene Einteilung der Mikroben in „gute“ und „schlechte“ Anaphylatoxinbilder vorausgeschickt. Wenn man die Zahl der von den verschiedensten Autoren auf ihre Befähigung zur Anaphylatoxinbildung geprüften Mikroben überblickt, so kann man zwei Gruppen unterscheiden, nämlich eine, und zwar die größte Gruppe, bei der von allen Autoren ziemlich regelmäßig die Giftbildung beobachtet wurde, und eine andere Gruppe, bei der die verschiedenen Untersucher widersprechende bzw. weniger regelmäßige oder gar keine positiven Ergebnisse hatten. Wertet man die Resultate der verschiedenen Untersucher gleich, so darf man wohl die erste Gruppe von Mikroben als „gute“, die zweite Gruppe als „schlechte“ Anaphylatoxinbilder bezeichnen.

Ich hatte in meiner oben zitierten Arbeit (Archiv f. Hyg., 1919, Heft 1/3) zunächst einmal die experimentell ermittelten Tatsachen, welche — ceteris paribus — die große Bedeutung der Oberfläche der den Seren zugefügten Agentien für das Auftreten des Giftes lehren, zusammengestellt. Diese für das Verständnis des Problems wichtigen Tatsachen sind kurz chronologisch zusammengestellt hauptsächlich folgende:

- 1) Unterschied in der Giftbildung zwischen Choleravibrionen und Choleragranula (Neufeld und Dold).
- 2) Unterschied in der Giftbildung zwischen gelöstem Pferdeserum und an Kaolin absorbiertem Pferdeserum (Neufeld und Dold).
- 3) Unterschied in der Giftbildung zwischen gewöhnlichen ¹⁾ Tuberkelbacillen (Neufeld und Dold) und entfetteten (Shibayama).
- 4) Unterschied in der Giftbildung zwischen Bakteriensuspensionen und filtrierten Bakterienextrakten (gelöstem Eiweiß) (Dold).
- 5) Unterschied in der Giftbildung zwischen Pilzsporen (mit ihrer fettartigen Membran) und der großen Masse der Bakterien (mit ihrer andersartigen Oberfläche) (Dold und Aoki).
- 6) Unterschied in der Giftbildung zwischen Bakterien, die einerseits mit Alkalien, andererseits mit Säuren vorbehandelt wurden (Dold und Aoki).
- 7) Unterschied in der Giftbildung vor und nach Schütteln der Bakterien in Oelen, in Galle und Cholesterin (Dold und Rhein).

1) Friedberger und seine Mitarbeiter bestreiten allerdings, wie schon in der zitierten Arbeit hervorgehoben, die von uns beobachtete schlechtere Eignung der Tuberkelbacillen zur Anaphylatoxinbildung.

8) Unterschied in der Giftbildung zwischen gewöhnlichen Bakterien einerseits, und solchen, die wiederholt mit frischem Serum behandelt worden („desanaphylatoxiert“) sind (Dold und Aoki).

9) Unterschied in der Giftbildung zwischen Inulinsuspensionen und Inulinlösungen (Nathan).

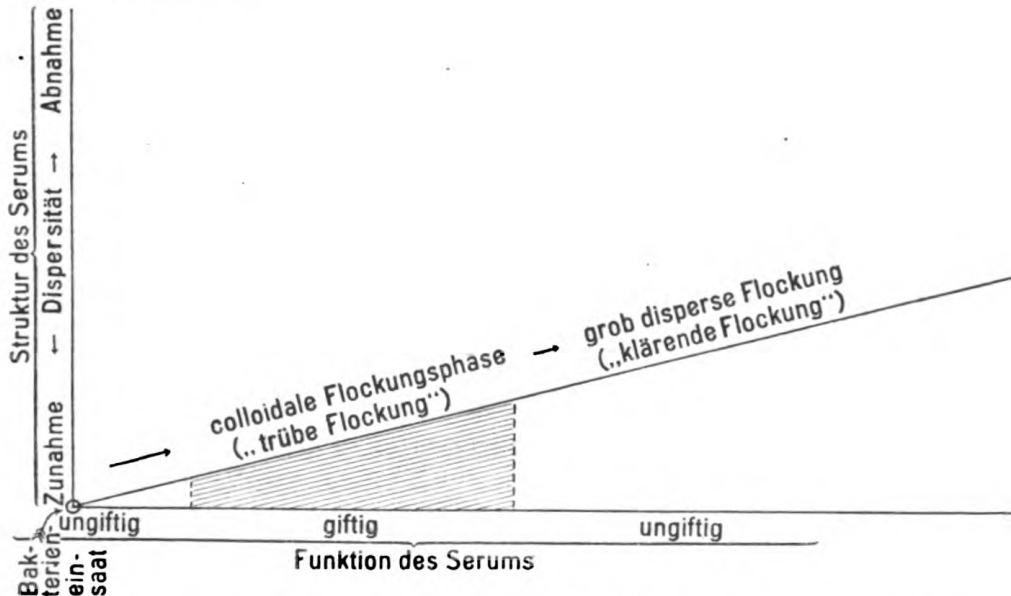
Ich hatte sodann unter Benutzung der seroskopischen Methode die Beobachtung gemacht, daß in den frischen (aktiven) Meerschweinchen- serum bald nach der Einsaat von „guten Anaphylatoxinbildern“ sich ein eigenartiger Flockungsvorgang einstellt, welcher verschiedene Stadien durchmacht: es tritt zunächst eine Trübung auf, welche entweder ganz homogen ist, oder in dem 3-fach vergrößernden Agglutinoskop Einzelteilchen in trübem Medium erkennen läßt. Dieses Stadium wurde von mir „trübe klebrige Flockung“ genannt, weil beim Hin- und Herbewegen die Flüssigkeit im Agglutinoskop klebriger und schwerer beweglich erscheint, als zuvor. Dieses Stadium der trüben klebrigen Flockung geht nun früher oder später in das Stadium der „klärenden Flockung“ über: Die homogene Trübung verschwindet, in dem klarer werdenden Medium erscheinen mit zunehmender Deutlichkeit zahlreiche Flocken und Flöckchen verschiedener Größenordnung. Schließlich entwickelt sich dieser Flockungsprozeß weiter zur spontanen Sedimentierung.

Wir haben also hier einen Flockungsvorgang vor uns, wie er bei kolloidalen Flüssigkeiten an der Tagesordnung ist: Fein kolloidal gelöste Teilchen treten zu gröberen Komplexen zusammen, es kommt zu einer kolloidalen Flockung, welche sich bekanntlich dem unbewaffneten Auge und auch bei schwachen Vergrößerungen als eine allmählich oder plötzlich sich entwickelnde Opaleszenz oder Trübung darbietet. Schreitet dieser Flockungsvorgang weiter, so kommt es zur Bildung von gröber dispersen Aggregaten, die erst nach Erreichung einer gewissen Größe in dem schwach vergrößernden Agglutinoskop und schließlich auch makroskopisch erkennbar werden, worauf bald die Sedimentierung einsetzt.

Ich hatte nun beobachtet, daß unter den gleichen Bedingungen, unter denen das Anaphylatoxin auftritt und besteht, eine durch gleichmäßige Trübung und Zunahme der Viskosität charakterisierte, also kolloidale Flockungsphase auftritt und besteht, und daß unter den gleichen Bedingungen, unter denen das Gift verschwindet, auch diese Flockungsphase verschwindet bzw. in das Stadium der gröber dispersen sich klärenden Flockung übergeht.

Vielleicht vermag das untenstehende Schema noch deutlicher meine Anschauung zum Ausdruck zu bringen, wozu ich noch bemerken möchte, daß selbstverständlich diese Vorgänge kurvenmäßig ablaufen und die Uebergänge von Ungiftigkeit zur Giftigkeit und zurück zur Ungiftigkeit, ebenso wie die Uebergänge von der molekularen bzw. feinkolloidalen Lösungsform in die gröber kolloidale („kolloidale Flockung“), und weiterhin in die grob disperse makroskopisch sichtbar werdende Flockung allmählich erfolgen.

Das Zusammenfallen von Giftigkeit und kolloidaler Flockung fügt sich sehr gut allgemein kolloidchemischen Vorstellungen und Erfahrungen ein, da man weiß, daß gerade dem Vorgang der kolloidalen Flockung die Entfaltung mächtiger physikalischer und chemischer Oberflächenkräfte eigentümlich ist.



Ferner ist zu dem Schema noch zu bemerken, daß in ihm nur der Einfluß der Zeit zum Ausdruck gebracht ist, während in Wirklichkeit noch eine Reihe anderer Faktoren den Ablauf des Flockungsprozesses beeinflussen. Auch muß ausdrücklich betont werden, daß in Wirklichkeit beim Serum, da es sich um ein Gemenge von verschiedenen dispersen Systemen handelt, die Flockungsvorgänge noch dadurch kompliziert werden, daß namentlich in den ersten Stadien der Flockung neben- und nacheinander Flocken verschiedener Größenordnung (feinkolloidale bis grobdisperse) auftreten. So kann es sein, daß zu einer gewissen Zeit schon einzelne grobdisperse Flocken zu erkennen sind, die aber in einem homogen getrübten Medium, d. h. in dem übrigen, nur kolloidal geflockten Serum sich befinden. Das ist das von mir als „trübe Flockung“ bezeichnete Stadium. Wie gesagt, vermögen wir mit dem Agglutinoskop das Auftreten und Vorhandensein kolloidaler Flockungen nur an dem Auftreten und dem Vorhandensein einer gleichmäßigen

Trübung zu erkennen. Zu sehen sind bei dieser Art Flockungen die geflockten Einzelteilchen mit dem erwähnten Instrument natürlich nicht. Ich habe darum mich in meinen Schlußfolgerungen vorsichtig eingeschränkt und ausdrücklich gesagt: „Wir wissen heute noch nicht, ob die von uns gesehenen und beschriebenen gröberen Flockungen oder die feineren, mit dem Agglutinoskop nicht mehr erkennbaren, die biologisch wirksamen sind.“

Bei dieser Sachlage erschienen Tierversuche verfrüht und wenig aussichtsreich, von dem Mangel an Versuchstieren, unter dem wir alle leiden, ganz abgesehen. Denn es ist ohne weiteres klar, daß brauchbare und einwandfreie Resultate nur erzielt werden konnten, wenn für derartige Versuche eine große Zahl von gleichartigen Versuchstieren (gleiche Tiergewichte!), sowie eine große Menge Injektionsmaterial (d. h. wiederum Tierserum in größeren Mengen) zur Verfügung stünden. Auch sonst sind noch allerlei methodologische Schwierigkeiten zu berücksichtigen. Man müßte z. B., streng genommen, die betreffende Serumprobe gleichzeitig seroskopieren und injizieren, da es sich ja bei diesen Flockungsprozessen um laufende, sich stetig verändernde Vorgänge handelt. Diese und ähnliche Schwierigkeiten, welche Ungleichheiten im Ergebnis bedingen müssen, ließen sich nur durch große Tierversuchsreihen ausgleichen.

Es ergaben sich folgende Parallelen zwischen dem Auftreten des Giftes einerseits und der trüben, klebrigen (kolloidalen) Flockungsphase andererseits:

1) Während der giftige Zustand im frischen Meerschweinchenserum durch die meisten Bakterien hervorgerufen wird, tritt er nicht auf nach Einsaat von

Pilzsporen,
Cholera granula,
desanaphylatoxierten Bakterien,
mit Oelen, Galle, Cholesterin vorbehandelten Bakterien.

1) Während die geschilderten Strukturveränderungen, insonderheit die trübe (kolloidale) Flockungsphase, nach Einsaat der meisten Bakterien auftreten, kommen diese Strukturveränderungen, insonderheit die trübe Flockungsphase, nicht zur Beobachtung nach Einsaat von

Pilzsporen,
Cholera granula,
desanaphylatoxierten Bakterien,
mit Oelen, Galle, Cholesterin vorbehandelten Bakterien.

2) Der giftige Zustand tritt nur in den frischen (aktiven) Seren auf.

3) Der giftige Zustand tritt bei Anwesenheit von spezifischen Ambozeptoren rascher auf und verschwindet wieder rascher.

4) Auftreten und Verschwinden des giftigen Zustandes zeigt ferner Abhängigkeiten von der Temperatur, vom Mengenverhältnis zwischen Serum und Einsaat.

5) Das Gift passiert Papierfilter.

6) Das Gift wird durch Berkefeldfiltration zum Verschwinden gebracht.

7) Eine gewisse Steigerung des Salzgehaltes wirkt konservierend auf das Gift.

2) Die geschilderten Strukturveränderungen (insonderheit die trübe Flockungsphase) treten nur in den aktiven Seren auf.

3) Der Flockungsprozeß läuft — *ceteris paribus* — bei Anwesenheit von spezifischen Ambozeptoren rascher ab.

4) Der Ablauf des Flockungsprozesses zeigt Abhängigkeiten von der Temperatur und von den Mengenverhältnissen zwischen Serum und Einsaat.

5) Die trübe (kolloidale) Flockung passiert Papierfilter.

6) Die trübe kolloidale Flockung wird durch Berkefeldfiltration zum Verschwinden gebracht.

7) Die gleiche Steigerung des Salzgehaltes bewirkt eine Stabilisierung des trüben (kolloidalen) Flockungszustandes.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit haben es Friedberger und Putter unternommen, meine Beobachtungen und Angaben nachzuprüfen. Ihre Nachprüfung bezog sich allerdings nur auf Punkt 2 der obigen Zusammenstellung von Parallelismen, nämlich auf meine Beobachtung, daß nach Einsaat geeigneter Bakterien nur in den aktiven Seren, aber nicht in den inaktiven Seren Strukturveränderungen, insonderheit die trübe kolloidale Flockungsphase, auftritt. Diese Beobachtung wird von den Autoren bestätigt: „Die Richtigkeit dieser Beobachtung von Dold soll keineswegs bestritten werden“ (p. 325). Sie haben dann Tierversuche unternommen, und dabei ist ihnen leider folgendes passiert: sie haben zwar im Titel ihrer Arbeit von mir die richtige Fragestellung (Ist das Anaphylatoxin charakterisiert durch eine eigenartige Flockungsphase der Serumglobuline) übernommen. In der Arbeit selbst aber haben sie argumentiert, als ob ich behauptet hätte, das Anaphylatoxin sei schlechthin durch die Anwesenheit von Flocken (und zwar grobdisperse) im Agglutinoskop erkennbare, von geklärtem Medium sich abhebende Flocken charakterisiert. Nachdem sie diese

falsche Fragestellung, die schon nach meinen Beobachtungen in negativem Sinne beantwortet werden mußte, in negativem Sinne beantwortet hatten, übertrugen sie diese negative Antwort auf die im Titel der Arbeit stehende richtige Fragestellung.

Dieses Mißverständnis, als hätte ich behauptet, Anaphylatoxin sei identisch mit irgendwelchen, irgendwann und irgendwo auftretende Serumflocken, zieht sich durch die ganze Arbeit der Autoren. Sie beschreiben das Verhalten ihrer Abgüsse durch die Bezeichnung „optisch leer“ bzw. „Flockung“ (und zwar minimale Flockung, ganz schwache Flockung, $\pm$, schwache Flockung, $+$, starke Flockung, $++$), und heben an vielen Stellen noch besonders hervor, daß die Flocken sich in klarem Medium (also im Stadium der „klärenden Flockung“) befanden. Andererseits sagt die Bezeichnung „optisch leer“ noch nichts aus über das Fehlen oder Vorhandensein einer kolloidalen Flockung, auf die es hier ankommt. Denn in dem 3-fach vergrößernden Agglutinoskop erscheint selbstverständlich eine kolloidale Flockung „optisch leer“, d. h. homogen, ohne erkennbare Einzelteilchen. Worauf es ankam, war, festzustellen, ob die Meerschweinchensera in dem Stadium, wo sich nach Einsaat der Bakterien das Auftreten einer kolloidalen Flockung durch das Auftreten¹⁾ einer homogenen Trübung („trübe Flockung“) kundgibt, anaphylatoxinartige Erscheinungen auslöst oder nicht. Unter dem als „optisch leer“ charakterisierten Zustand der Sera konnte sich sehr wohl ein derartiger kolloidaler Flockungszustand verbergen. Es ist zuzugeben, daß diese Dinge von verschiedenen Augen nicht völlig gleichmäßig gesehen werden mögen.

Bei den Beobachtungen im Agglutinoskop und ähnlichen Instrumenten läßt sich zunächst nur feststellen, ob man eine homogene (klare oder trübe) Flüssigkeit, oder eine inhomogene Flüssigkeit, welche Einzelteilchen erkennen läßt, vor sich hat. Solche Einzelteilchen pflegt man bekanntlich als Flocken oder auch als Flockungen zu bezeichnen, wobei

1) Um Mißverständnissen vorzubeugen, sei nochmals betont, daß wir nicht das Vorhandensein einer Trübung, sondern das Auftreten einer solchen, nicht einen vorhandenen strukturellen Zustand, sondern eine unter dem Einfluß der zugefügten Agentien auftretende strukturelle Zustandsänderung im Serum meinen.

man es zunächst dahingestellt läßt, aus was sich solche Einzelteilchen („Flocken“) zusammensetzen. Im Serum, auch im zentrifugierten, können solche Einzelteilchen („Flocken“) z. B. noch suspendierte Erythrozyten oder Leukozyten oder Blutplättchen oder aber gröbere Eiweißzusammenballungen u. a. sein. Ich stimme darum mit Friedberger und Putter vollständig darin überein, daß in ungenügend zentrifugierten Seren, vor allem auch im Rinderserum, noch suspendierte Blutkörperchen das Bild einer „groben Flockung“ geben können. Es ist auch möglich, daß die von mir in einem großen Teil der frischen (aktiven) Seren beobachteten leuchtenden Einzelteilchen nicht aus Eiweißzusammenballungen, sondern aus Zellen und Zelltrümmern (Erythrozyten, Leukozyten, Blutplättchen), die trotz des langen Zentrifugierens noch in Suspension geblieben sind, bestehen.

Die Worte Flocke und Flockung werden eben in verschiedenem Sinne, einmal als Bezeichnung für irgendeine in einer homogenen Flüssigkeit erkennbare Inhomogenität, und dann als Bezeichnung für eine Zusammenballung, das Wort „Flockung“ außerdem noch als Bezeichnung für einen physikalischen Vorgang, einen Prozeß, dessen Wesen in Zusammenballungen besteht, gebraucht! Glücklicherweise ergibt sich aus dem Zusammenhang in der Regel der jeweils gemeinte Sinn. Wenn z. B. in einem vorher klar homogenen Serum nach Zusatz von destilliertem Wasser Flocken auftreten, so dürfte nur eine Deutung möglich sein.

Friedberger und Putter wollen die nach Einsaat von Bakterien in aktivem Meerschweinchenserum auftretende Trübung durch Plasmolyse und Aufquellung der Bakterien erklären, und die in einem späteren Stadium auftretenden grobdispersen Flocken als gequollene Bakterienleibsubstanzen auffassen. Sie wollen auch solche Flocken bei der Betrachtung im hängenden Tropfen als aus agglutinierten Bakterien bestehend erkannt haben. Ich frage: Bestanden diese Flöckchen im Serum nur aus agglutinierten Bakterien? Wo bleibt das Serum bei diesen Vorgängen? Wie erklären sich die Autoren das Auftreten analoger Vorgänge im Serum, nämlich erst homogene Trübung (= kolloidale Flockung), dann makroskopisch sichtbare grobdisperse Flockenbildung beim einfachen

14*

Lagern oder bei Herabsetzung der Salzspannung durch Zusatz von Aqua dest.? Wie sehen solche Flöckchen aus im Vergleich mit den Flöckchen, die sich nach Einsaat von Bakterien bilden?

Natürlich bestreite ich nicht, daß bei der einen oder anderen Bakterienart, nachdem sie mit dem Serum in Berührung gekommen ist, Plasmolysevorgänge und Agglutinationen auftreten werden, aber meine Auffassung geht dahin, daß gleichzeitig in dem Serum durch die Bakterien Flockungsvorgänge ausgelöst werden, wodurch es zunächst zu kolloidalen Flockungen, welche in der Hauptsache die auftretende homogene Trübung bedingen, und weiterhin zu grobdispersen Flocken kommt, welche vielleicht agglutinierte Bakterien als Kern enthalten, aber der Masse nach in der Hauptsache aus Serumeiweiß bestehen.

Zentrifugieren.

Die eventuelle Bedeutung, welche die Art und Dauer des Zentrifugierens für den giftigen Zustand der Sera haben könnte, wurde meines Wissens erst seit den Arbeiten über das Kaolin und besonders über Stärke, Agar und Inulin diskutiert. In allen früheren Arbeiten, auch in denen von Friedberger und seinen Mitarbeitern, findet sich keine genauere Angabe über die Art und Dauer des Zentrifugierens. Man liest nur: „Zentrifugierung“ oder „kräftig“ oder „gründlich zentrifugiert“.

Es kann nun keinem Zweifel unterliegen, daß die Dauer des Zentrifugierens, schon als zeitlicher Vorgang, von Einfluß auf das „Gift“ ist. Der Ansicht der Autoren: „Auf die Giftigkeit des Serums ist die Zentrifugierzeit ohne Einfluß“ (p. 331) vermag ich darum nicht beizutreten. Im Gegenteil, ich glaube den Satz vertreten zu können: Man kann das „Gift“ durch Zentrifugieren zum Verschwinden bringen, sofern man nur lange genug zentrifugiert. Hat uns doch Friedberger selbst gelehrt, und die Nachprüfungen haben es bestätigt, daß das Anaphylatoxin eine zeitlich begrenzte Erscheinung ist, und daß das Gift früher oder später wieder verschwindet. Die Zeit läuft für das Anaphylatoxin ab, gleichgültig, ob das

Gift irgendwo steht oder in der Zentrifuge läuft. Dazu kommt noch die Tendenz des Giftes, aus der nicht oder schwer zentrifugablen kolloidalen Phase in die leichter zentrifugable grobdisperse „klärende“ Flockungsphase überzugehen (wie ich aus meinen Beobachtungen schließen zu müssen glaube).

Tierversuche.

Wie ich schon oben ausführte, wäre es zweifellos wünschenswert, daß durch groß angelegte Tierversuche die Art der Beziehungen zwischen dem Auftreten der „Giftigkeit“ und dem Auftreten der kolloidalen Flockungsphase weiter geklärt werden könnte. Ich habe aber auch schon auf die methodologischen Schwierigkeiten hingewiesen.

Friedberger und Putter haben die Frage durch Tierversuche zu lösen versucht. Ganz abgesehen von der falschen Fragestellung, auf die ich oben schon hingewiesen habe, scheinen mir die Tierversuche der Autoren keineswegs einwandfrei. Es handelt sich um 25 Tierversuche, und wenn wir die Versuche überblicken, so finden wir, daß in diesen 25 Tierversuchen 6mal die Serumart (Meerschweinchen, Pferd, Hammel, Kaninchen, Mensch, Rind-Kalb-Ochs), 2mal die Bakterienart (Ty, Prodig.), 2mal die Inkubationszeit (60 Minuten 37° C; 12 Stunden Frigo), 2mal die Zentrifugierzeit (10 und 30 Minuten), 8mal das Tiergewicht (200, 220, 230, 240, 250, 280, 290, 300 g), und 6mal die Injektionsdosis (4,0, 3,5, 3,0, 2,5, 1,0, 0,5 ccm) variieren. Wir haben also in 25 Tierversuchen 26 Varianten, außer dem fraglichen X, welches durch diese Tierversuche gelöst werden sollte. Wo bleibt da das „ceteris paribus“, welches doch — in genügender breiter Form — die Grundlage und Voraussetzung für einwandfreie Tierversuche bilden sollte? Diese 25 Tierversuche setzen sich aus anscheinend 10 Versuchsreihen, bestehend aus 1, 2 und 3 Einzelversuchen, zusammen. Selbst in diesen kleinen Versuchsreihen variieren die Gewichte der Tiere oft beträchtlich. So sind z. B. bei den Versuchen 13—15 die Tiergewichte 280 bzw. 220 g, und das Gewicht der Kontrolle ist gar nicht angegeben!

Damit kommen wir zur Gewichtsfrage. Friedberger hat uns gelehrt, daß für den Anaphylatoxinversuch am besten

Tiere von ca. 200 g Tiergewicht und Injektionsdosen von ca. 4 ccm geeignet sind. Die große Masse der Friedbergerischen Anaphylatoxinversuche sind mit Meerschweinchen im Gewicht von 170—230 g angestellt worden, und wer Erfahrungen über das Anaphylatoxin gesammelt hat, der weiß, von welch ausschlaggebender Bedeutung Gewicht und Größe der Tiere namentlich im Verhältnis zur Injektionsdosis für den Ausfall des Versuches sind. Auf p. 328 geben die Autoren an, daß sie Tiere von 230—250 g Gewicht verwendet haben, aus der Tabelle (p. 340—343) ergibt sich aber, daß die Tiergewichte zwischen 200 und 300 g (!) schwankten. Bedenkt man, daß auch die Injektionsdosen trotz der großen Tiere verhältnismäßig niedrige waren und auch noch beträchtlich variierten, so kann man meines Erachtens diesen Tierversuchen keine überzeugende Kraft zuerkennen.

Serumarten.

Ich hatte in der oben zitierten Arbeit bemerkt, daß analoge (nicht identische!) Flockungsvorgänge, wie sie sich im Meerschweinchenserum nach Einsaat geeigneter Bakterien entwickeln, sich auch in anderen Serumarten abspielen, und daß — natürlich nur in dieser Beziehung — das Meerschweinchenserum als Beispiel dienen könne. Ich habe ausdrücklich betont, daß der Ablauf dieser Flockungsprozesse u. a. auch von der Serumart abhängig sei (siehe p. 123 und p. 128, Zusammenfassung, Abs. 5).

Daraus geht hervor, daß es unrichtig ist, die zunächst nur für das Meerschweinchenserum ermittelten Verhältnisse bezüglich des Parallelismus von Giftigkeit und Auftreten der kolloidalen Flockungsphase einfach auf andere Serumarten zu übertragen, auf Serumarten, die zum Teil schon primäre Giftigkeit aufweisen. Ueber meinen Standpunkt in der Frage der primären Serumgiftigkeit siehe weiter unten. Wenn man nun vollends, wie Friedberger und Putter, außerdem noch mit der falschen Fragestellung arbeitet (grob-disperse Flockenbildung = Anaphylatoxin), und berücksichtigt, was ich oben über Tierversuche überhaupt und speziell über die Tierversuche von Friedberger und Putter gesagt

habe, so kann man den Wert solcher mit allerlei Serumarten angestellten Versuche nicht hoch bemessen.

Zusammenhang zwischen primärer Giftigkeit der Sera und Flockung.

Friedberger und Putter schreiben: „Auch die primäre Giftigkeit normaler Sera sucht Dold vermittleits seiner Flockungshypothese zu erklären“, und in der Zusammenfassung „Auch die primäre Giftigkeit der Sera hat Dold mit den Flockungen in Zusammenhang gebracht.“ Wer das liest, muß zu der Meinung kommen, als hätte ich generell die primäre Giftigkeit normaler Sera durch Flockungen erklären wollen. Demgegenüber muß ich feststellen, daß diese Darstellung den Tatsachen widerspricht. Ich sagte in der fraglichen Arbeit auf p. 120: „Man wird wohl überhaupt gut daran tun, von vorneherein auf einen einheitlichen Erklärungsversuch zu verzichten, da die unter dem gemeinsamen Namen der „primären Serumgiftigkeit“ zusammengefaßten mannigfaltigen Vergiftungen trotz äußerlicher Ähnlichkeit wahrscheinlich auf verschiedenen Vergiftungsmechanismen beruhen. Ich glaube, daß uns das Verständnis für die Giftigkeit mancher primärtoxischer Normalsera erleichtert wird, wenn wir auch das seroskopische Verhalten dieser Sera berücksichtigen.“ Und um nicht mißverstanden zu werden, heißt es auf p. 121, Mitte, nochmals ausdrücklich: „Ich will damit nicht behaupten, daß sich die Toxizität giftiger Normalsera allgemein durch ihre Struktur erklären lasse. Im Gegenteil, die Verhältnisse liegen, wie ich schon oben bemerkte, wahrscheinlich von Fall zu Fall anders. Aber bei dem einen oder anderen der primär toxischen Sera . . . müßte doch ernstlich in Betracht gezogen werden, ob nicht die Ursache der Giftwirkung namentlich bei intravenöser Einverleibung auch in der Struktur dieser Sera liegt usw.“

Es ist mir unverständlich, wie die Autoren meinen vorsichtig formulierten Standpunkt, der sich ausdrücklich gegen eine Generalisierung verwahrt, in der obigen Weise wiedergeben konnten. Es erübrigt sich darum für mich, auf die von den beiden Autoren auf Grund dieser irrigen Auffassung

vorgenommenen Tierversuche einzugehen, zumal da auch hier wiederum die falsche Fragestellung wiederkehrt.

Die Autoren weisen in vorwurfsvollem Tone darauf hin, daß ich meine Anschauungen über das Anaphylatoxin gegenüber früher geändert habe. Darauf möchte ich erwidern, daß die Vorstellungen, welche wir von den Dingen haben, von den uns bekannten und neu bekannt werdenden Tatsachen abhängig sind. Aendern oder erweitern sich unsere Kenntnisse, so ändern wir auch unsere Anschauungen. Handelten wir anders, wären wir keine objektiv denkende Wesen.

Wenn Friedberger und Putter schließlich ihre Ansichten über die strittige Frage dahin zusammenfassen: „Wir wollen es ganz dahingestellt sein lassen, ob nicht schließlich doch allerfeinste Strukturveränderungen im anaphylatoxinhaltigen Serum vorhanden sind. Aber das, was von im Agglutinoskop sichtbaren Veränderungen vorliegt, steht jedenfalls in keinem Zusammenhang mit dem Anaphylatoxin, und ob es bei feineren Strukturveränderungen der Fall ist, wissen wir nicht“, so dürfte dies ungefähr das gleiche sein, wie wenn wir in der umstrittenen Arbeit sagten: „Wir wissen heute noch nicht, ob die von uns gesehenen und beschriebenen gröberen Flockungen oder die feineren, mit dem Agglutinoskop nicht mehr erkennbaren, die biologisch wirksamen sind“. Und es sei hier noch erwähnt, daß in der Zwischenzeit französische Forscher auf anderem Wege zu einem ähnlichen Ergebnisse gekommen sind. W. Kopaczewski¹⁾, Roffo, A. H. und H. L. fassen das Ergebnis ihrer Studien über Oberflächenspannung dahin zusammen: „Une fois de plus ces résultats arrivent à confirmer que l'anaphylaxie n'est qu'une réaction de flocculation colloïdale etc.“

Zusammenfassung.

1) Auf Grund der Beobachtung, daß unter den gleichen Bedingungen, unter denen bekanntlich das Bakterienanaphylatoxin auftritt bzw. verschwindet, eine eigenartige Strukturveränderung der Meerschweinchensera, nämlich eine durch homogene Trübung erkennbare kolloide Flockungsphase, auf-

1) W. Kopaczewski, A. H. und H. L. Roffo, C. r. hebdomadaire Acad. sciences, T. 170, 1920, p. 1409.

tritt bzw. verschwindet, wurde in einer früheren Arbeit zunächst nur gesagt, daß das Anaphylatoxin durch eine eigenartige Flockungsphase der Serumglobuline¹⁾ charakterisiert sei.

Es wurde ausdrücklich betont, daß „wir noch nicht wissen, ob die von uns gesehenen und beschriebenen gröberen Flockungen oder die feineren, mit dem Agglutinoskop nicht mehr erkennbaren, die biologisch wirksamen sind“. Bei dieser Sachlage erschienen Tierversuche verfrüht und wenig aussichtsreich.

2) In der Absicht, obige Angaben nachzuprüfen, haben Friedberger und Putter Tierversuche angestellt. Dabei ist ihnen folgender Lapsus passiert: Obwohl sie im Titel ihrer Arbeit die richtige Fragestellung (Ist das Anaphylatoxin charakterisiert durch eine eigenartige Flockungsphase der Serumglobuline?) übernommen haben, argumentieren sie in der Arbeit selbst, als ob von uns behauptet worden wäre, das Anaphylatoxin sei schlechthin gleich Flockenbildung (und zwar grob disperse, im Agglutinoskop erkennbare, vom geklärten Medium sich abhebende Flocken). Nachdem sie diese falsche Fragestellung, die schon nach unseren Beobachtungen im negativen Sinne beantwortet werden mußte, im negativen Sinne beantwortet hatten, übertrugen sie diese negative Antwort auf die im Titel der Arbeit stehende richtige Fragestellung.

Ganz abgesehen von der falschen Fragestellung, sind unseres Erachtens die Tierversuche von Friedberger und Putter nicht einwandfrei und überzeugend, schon wegen der zu verschiedenen und im allgemeinen zu hohen Tiergewichte.

3) Obwohl die nach Einsaat geeigneter Bakterien im frischen Meerschweinchenserum sich abspielenden Flockungsvorgänge als Beispiel für analoge in anderen Tierseren nach Bakterieneinsaat auftretende Flockungsprozesse betrachtet werden dürfen, ist es nicht angängig, die für den klassischen Anaphylatoxinversuch im Meerschweinchenserum von uns genauer studierten Verhältnisse ohne weiteres auf andere Tiersera zu übertragen.

1) Es ist wohl richtiger, zunächst nur von einer Flockungsphase des Serums zu sprechen, da wir noch nicht bestimmt sagen können, welche Teile des Serums an dem Vorgang beteiligt sind.

4) Was die Frage der primären Serumgiftigkeit anlangt, so muß ich den von Friedberger und Putter mir zugeschobenen Standpunkt ablehnen. Mit ihrer uneingeschränkten Behauptung: „Auch die primäre Giftigkeit der Sera hat Dold mit den Flockungen in Zusammenhang gebracht“, erwecken sie den Eindruck, als hätte ich generell die primäre Giftigkeit normaler Sera mit Flockungen erklären wollen, während ich in Wirklichkeit, unter ausdrücklicher Ablehnung jedes generellen Erklärungsversuches und unter Betonung des komplizierten Charakters dieser Frage, nur gesagt habe, daß „ich glaube, daß uns das Verständnis für die Giftigkeit mancher primär toxischer Normalsera erleichtert werde, wenn wir auch das seroskopische Verhalten dieser Sera berücksichtigen“.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

„Anaphylatoxin und Serumflockung.“

Entgegnung auf vorstehende Erwiderung
von Hermann Dold.

Von **E. Friedberger** und **E. Putter**.

Auf die vorstehenden Ausführungen Dolds wollen wir hier nur insofern eingehen, als es zur Richtigstellung des Sachverhaltes unbedingt notwendig ist.

1) Dold meint, es sei uns der „Lapsus“ passiert, daß wir nur „im Titel unserer Arbeit die richtige Fragestellung (von ihm) übernommen hätten“, aber „in der Arbeit selbst argumentieren, als ob (von Dold) behauptet worden wäre, das Anaphylatoxin sei schlechthin gleich Flockenbildung (und zwar grob disperse, im Agglutinoskop erkennbare, vom geklärten Medium sich abhebende Flocken)“. Dagegen müssen wir uns entschieden verwahren.

Wenn jetzt Dold bestreitet, daß das Anaphylatoxin identisch sei mit irgendwelchen, irgendwann und irgendwo auftretenden Flocken und meint, daß auch unter dem optisch leeren Serum „sich wohl ein derartiger kolloidaler Flockungs-

zustand verbergen könne“ und daß „diese Dinge von verschiedenen Augen nicht völlig gleichmäßig gesehen werden mögen“, so ist das doch ein glattes Zugeständnis der Tatsache, daß eben für das normale Auge¹⁾ und auch für das mit dem Agglutinoskop bewaffnete normale Auge ein optisch leeres Serum giftig sein kann, daß also die sichtbaren Flockungen nicht mit dem Anaphylatoxin in Zusammenhang gebracht werden können. Das ist also das, was auch wir gesagt haben²⁾. Und wenn jetzt Dold meint, daß wir die richtige Fragestellung aus dem Titel seiner Arbeit falsch (negativ) beantwortet haben, so liegt es bloß daran, daß er seiner Arbeit als Titel eine falsche Behauptung vorausgestellt hat. Der Titel lautet: „Anaphylatoxin charakterisiert durch eine eigenartige Flockungsphase der Serumglobuline.“

Unsere Nachprüfung der Arbeit mittels der Methode, durch die man allein bis heute das Anaphylatoxin erkennen kann, nämlich der Tierversuche, hat aber ergeben, und die jetzigen Ausführungen von Dold erkennen es an, daß das Anaphylatoxin nicht durch eine eigenartige Flockungsphase der Serumglobuline charakterisiert ist, wenigstens nicht durch eine, die man mit den bis heute zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln wahrnehmen kann.

2) Unverständlich sind uns Dolds Ausführungen bezüglich des Zentrifugierens. Er schreibt hier, und annähernd wörtlich auch im Arch. f. Hygiene, Bd. 89, p. 379, daß „in allen früheren Arbeiten, auch in denen von Friedberger und seinen Mitarbeitern, sich keine genauere Angabe über die Art und Dauer des Zentrifugierens findet“. Es genügt darauf hinzuweisen, daß Friedberger schon im Jahre 1911³⁾ auf die Wichtigkeit der Zentrifugierzeit und -Intensität hingewiesen und außerdem in einer gemeinschaftlichen Arbeit mit

1) Wir haben beide Sehschärfe 1.

2) Dolds Angaben sind im übrigen recht wenig präzise. Wir sagen ausdrücklich im Anfang unserer Arbeit und müssen es noch heute nach wiederholter Lektüre der Doldschen Arbeit aufrecht erhalten: „Es ist uns nicht recht möglich, aus ihr zu einem klaren Ergebnis über diese Frage zu kommen, da die Angaben etwas unbestimmt sind und sich teilweise sogar zu widersprechen scheinen.“

3) Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 50, 1911, Beiheft, p. 71.

Joachimoglu¹⁾ zur möglichststen Entfernung der Stärke aus den Serum-Kleistergemischen nach Schmidt die Methode durch Einführung der fraktionierten Zentrifugierung noch weiter vervollkommen hat. In dieser Arbeit und in unsern folgenden über dieses Thema sind auch die Zentrifugierzeiten ausdrücklich angegeben. Wir müssen uns um so mehr wundern, daß Dold in seiner vorliegenden Erwiderung diese irrtümlichen Behauptungen aufrecht erhält, als wir doch in einem Schreiben vom 7. Februar 1921, nach dem Erscheinen der Arbeit im Arch. f. Hygiene²⁾, ihn darauf aufmerksam gemacht haben.

Es freut uns aber, aus dieser Arbeit zu ersehen, daß auch Dold der Meinung ist, es bliebe von in Serum eingesäten Agentien trotz scharfen Zentrifugierens noch viel in den Abgüssen zurück und speziell, worauf Friedberger bezüglich der Stärke schon ausdrücklich hingewiesen hatte, an der Glaswand infolge von Adsorption haften. So kommt denn auch Dold zu einer Bestätigung der von Friedberger aufgestellten Vermutung³⁾, daß auch in den Agarversuchen Bordets die Giftbildung wenigstens teilweise rein mechanisch durch im Serum zurückgebliebene, hier gequollene Agarpartikelchen zu erklären sei.

Wenn wir in unserer Arbeit geschrieben haben: „Auf die Giftigkeit des Serums (d. h. das Anaphylatoxin) ist die Zentrifugierzeit ohne Einfluß“, so bedeutet das doch nicht, daß die Zeit ohne Einfluß ist. Es ist ja allgemein anerkannt, daß, wie Friedberger bereits vor über 10 Jahren gezeigt hat, das Anaphylatoxin eine zeitlich begrenzte Erscheinungsphase ist und allmählich, etwa im Verlauf von 24 Stunden bei Brutschranktemperatur, in eine ungiftige Phase übergeht. Dabei ist es natürlich „gleichgültig, ob das Gift irgendwo steht oder in der Zentrifuge läuft“. Das hat aber selbstverständlich nichts damit zu tun, daß ein Anaphylatoxinabguß giftig oder ungiftig ist, einerlei, ob er sichtbare Flocken enthält, oder ob diese durch 10–30 Minuten langes Zentrifugieren

1) Friedberger-Joachimoglu, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 84, 1917, p. 336.

2) Dold, Arch. f. Hyg., Bd. 89, 1920, p. 373.

3) Diese Zeitschr., Bd. 30, 1920, p. 282, Fußnote 2.

(um längere Zeitspannen handelt es sich aber nicht) bei niedrigerer Temperatur ausgeschleudert werden.

3) Wendet sich Dold gegen unsere Tierversuche. Er schreibt allerdings in seiner zuletzt erschienenen Arbeit (Arch. f. Hyg.) — bei der Niederschrift wohl noch in Unkenntnis unserer Veröffentlichung — bezüglich des Zusammenhangs der Flocken mit der Giftigkeit:

„Als bewiesen könnte diese Vermutung allerdings erst dann gelten, wenn es einerseits durch Verbesserung unserer Beobachtungsmittel gelänge, auch solche feine Globulinflockungen zu Gesicht zu bringen, und andererseits in Tierversuchen der Nachweis erbracht würde, daß ein Parallelismus zwischen der Giftigkeit und dem Auftreten solcher feiner Flockungen.“

Hier also erkennt auch er das ausdrücklich an, was wir schon zuvor gesagt, aber auch ausgeführt haben, daß nur der Tierversuch eine Entscheidung bringen kann. Unsere eigenen Versuche, die aus dem Wunsch heraus entnommen waren, diesen Parallelismus nachzuweisen, und eindeutig zu dem Dold entgegengesetzten Ergebnis geführt haben, läßt Dold aber nicht gelten. Er schreibt, daß wir nicht nur eine falsche Fragestellung hätten, einen Vorwurf, den wir oben schon zurückgewiesen haben, sondern daß wir in unseren Versuchen mit 25 Tieren Serumart, Bakterienart, Inkubationszeit, Zentrifugierzeit, Tiergewicht, Injektionszeit so oft variiert hätten, daß im ganzen 26 Varianten erzielt wurden. Mit Emphase fragt er dann: „Wo bleibt da das „ceteris paribus“, welches doch — in genügender breiter Form — die Grundlage und Voraussetzung für einwandfreie Tierversuche bilden sollte“?

Jeder Leser, der unsere Arbeit nicht zur Hand hat, muß danach den Eindruck gewinnen, als ob wir die elementarsten Fehler in unseren Tierversuchen begangen hätten, die man selbst einem Anfänger auf diesem Gebiete kaum zutrauen dürfte.

Wir sehen uns deshalb genötigt, im nachstehenden noch einmal unsere gesamten Tierversuche in Form einer Tabelle zu bringen, die so angeordnet ist, daß man in den einzelnen Versuchsreihen I—X die Tiergewichte, die Injektionsdosen und Injektionszeiten fettgedruckt untereinander sehen kann.

Versuchsreihe	Lfd. No.	Serumart	Bakterienart	Flockungszustand	Tiergewicht	Injektionsdosis	Injektionszeit	Ergebnis	Bemerkungen
I	1	Meerschweinchen	Typhus	minimale Flockung	250	3,5	14"	leichte Dyspnoë, sonst o. B.	
	2	Pferd	"	leer	230	3,0	15"	leichte Dyspnoë, sonst o. B.	
II	3	Meerschweinchen	Prodigiosus	starke Flockung	230	2,5	12"	o. B., lebt	
	4	Hammel	"	schwache Flockung	230	2,5	12"	† in 60'	
	5	Kaninchen	"	ganzschwache Flockung	230	2,5	12"	† sofort	
III	6	Meerschweinchen	Prodigiosus	leer	240	3,5	20"	† sofort	
	7	Pferd	"	leer	240	3,5	20"	† sofort	
	8	Pferd	—	starke, klare Flockung	240	4,0	20"	o. B., lebt	Kontrolle
IV	9	Meerschweinchen	Prodigiosus	fast leer, minimale Flockung	200	4,0	18"	starke Dyspnoë, erholt sich sehr spät	
	10	Pferd	"	leer	220	4,0	17"	Dyspnoë, erholt sich sehr rasch	
V	11	Meerschweinchen	Prodigiosus	ganz feine Flockung in klarem Medium	200	3,0	15"	schwere Dyspnoë, erholt sich sehr langsam	
	12	Mensch	"	ganz feine Flockung in klarem Medium	200	3,0	15"	leichte Dyspnoë, sonst o. B.	
VI	13	Meerschweinchen	Prodigiosus	leer	280	3,5	15"	schwere Dyspnoë, erholt sich	
	14	Pferd	"	leer	220	3,5	16"	Krämpfe, † in 6'	
	15	Pferd	—	minimale Flockung, an der Grenze der Sichtbarkeit	230	3,5	15"	Krämpfe, † in 5'	Kontrolle
VII	16	Meerschweinchen	Prodigiosus	leer	300	3,5	15"	starke Dyspnoë, erholt sich nur ganz langsam	
	17	Pferd	"	leer	280	3,5	15"	leichte Unruhe, sonst o. B.	
	18	Pferd	—	minimale Flockung, gerade erkennbar	300	3,5	16"	o. B.	Kontrolle
VIII	19	Rind	—	leer	200	1,0	6"	schwerer Shock, † in 2'	
	20	Kalb	—	Flockung an der Grenze der Sichtbarkeit	200	1,0	6"	nach 2' beginnende Dyspnoë, Krämpfe, † in 10'	

Versuchsreihe	Lfd. No.	Serumart	Bakterienart	Flockungszustand	Tiergewicht	Injektionsdosis	Injektionszeit	Ergebnis	Bemerkungen
IX	21	Rind	—	leer	200	0,5	4"	Shock, † in 32'	
	22	Kalb	—	Flockung an der Grenze der Sichtbarkeit	200	0,5	5"	leichte Krämpfe, Dyspnoë, erholt sich	
X	23	Ochse	—	wenig grobe, massenhaft feine Flocken	240	0,5	5"	Dyspnoë, Krämpfe, † in 10'	
	24	Rind	—	massenhaft feine Flocken	290	0,5	8"	schwere Dyspnoë, † in 38'	
	25	Rind	—	leer	290	0,5	5"	Krämpfe, † in 53'	

Es ergibt sich, daß das Tiergewicht jeder Reihe bis auf eine einzige (VI) konstant ist oder höchstens um 20 g differiert (kein Tier unter 200 g!). Ebenso verhält es sich mit den Injektionszeiten, die (mit der Stoppuhr bestimmt) in den jeweiligen Versuchsreihen einmal um 3, sonst höchstens um 1 Sekunde „variieren“.

Die Dosen waren in den einzelnen Reihen konstant bis auf 2, wo sie bei einem Mindestvolum von 3,0 (Reihe I) und 3,5 (Reihe III) um 0,5 differierten. Aber gerade in den Versuchen, in denen als Injektionsdosis 3,5 gegen 3 bei der Kontrolle (Reihe I) und 4 gegen 3,5 gegeben wurde (III), handelte es sich bei den größeren Dosen um geflockte Abgüsse, wo also die größeren Dosen eine Belastung der Versuchsanordnung zuungunsten unserer Fragestellung bedeuteten. Es ist das eine „Variierung“, wie sie für jeden gewissenhaften Experimentator selbstverständlich ist und aus der füglich auch seitens eines Gegners kein lediglich irreführender Vorwurf gemacht werden sollte. Auch in dem Versuch, in dem die Injektionszeit etwas länger ausgedehnt wurde, 8 Sekunden statt 5 (Reihe X), handelte es sich um einen Abguß mit massenhaften Flocken, wo bei der langsamen Injektion eher ein Ueberleben zu erwarten gewesen wäre, als bei der kürzeren Injektion des leeren Abgusses. Der Tod trat aber trotz der langsamen Injektion noch rascher ein († 38 Min.) als bei der schnelleren († 53 Min.) ein. Also auch hier eine Belastung der Versuchsanordnung durch die „Variierung“ zuungunsten unserer Fragestellung.

Ebenso haltlos sind Dolds Einwände gegen die Gewichte unserer Tiere. Von 25 Tieren hatten nur 6 ein Gewicht von mehr als 250 g, wovon noch 2 von 290 g nach der Injektion akut eingingen (X), sie waren also nicht zu schwer. In der anderen Versuchsreihe (VII) blieben alle 3 Tiere am Leben. Es ist also nur eine Versuchsreihe übrig (VI), in der die leichteren Tiere (220—230 g) akut eingingen, während das schwere Tier (280 g) entgegen unserer Voraussetzung am Leben blieb. Hier wäre es zweckmäßiger gewesen, das 50 g schwerere Tier (No. 13) als Kontrolle zu verwenden.

Wenn nun Dold trotzdem sagt, daß in unseren einzelnen Versuchsreihen „die Gewichte der Tiere oft beträchtlich variieren“, so ist das falsch. Es trifft bestenfalls für eine einzige der 10 Versuchsreihen, nämlich No. VI, zu.

Weiter wird in Sperrdruck behauptet, das Gewicht der Kontrolle sei nicht angegeben. Auch das ist unrichtig. Bei einer etwas sorgfältigeren Berücksichtigung der gegnerischen Arbeit, wie man sie doch vor allem bei einer Erwiderung erwarten sollte, hätte Dold ohne weiteres sehen können, daß in der Tabelle sämtliche Gewichte angegeben sind.

Die herabsetzende Kritik Dolds an unseren Tierversuchen ist also irreführend und falsch. Sie wird von niemand als objektiv beurteilt werden können. Seine Behauptungen entbehren jeder Grundlage. Wir weisen sie als völlig ungerechtfertigt und unhaltbar zurück.

Auf die weiteren Ausführungen von Dold gehen wir heute nicht ein. Sie stellen inhaltlich lediglich eine Wiederholung dessen dar, was er schon in seiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand geschrieben hat. Wir könnten daraufhin auch nur die gewichtigen Argumente wiederholen, durch die wir alle diese Punkte bereits in unserer früheren Arbeit widerlegt haben.

**Bemerkungen zu vorstehender Entgegnung
von E. Friedberger und E. Putter.**

Von **H. Dold.**

Zu vorstehender Entgegnung erlaube ich mir folgendes zu bemerken:

1) Meine Behauptung, daß die Friedberger-Putter-schen Versuche auf einer falschen Fragestellung aufgebaut sind, finde ich in der vorstehenden Entgegnung zwar zurückgewiesen, aber nicht widerlegt.

2) Die Tatsache bleibt bestehen, daß allgemein in den früheren (vor 1917) Arbeiten über das Anaphylatoxin, auch in denen von Friedberger und seinen Mitarbeitern, regelmäßige und genaue Angaben über Art und Dauer des Zentrifugierens in den Protokollen fehlen.

3) Auch die Tatsache bleibt bestehen, daß in der fraglichen Arbeit (diese Zeitschr., Bd. 30, p. 321) die Angaben der Autoren über die Gewichte der bei ihren Versuchen verwendeten Tiere einerseits im Text (p. 328, 230—250 g) und andererseits in den Protokollen bzw. in der Uebersichtstabelle (p. 340—343, 200—300 g) sich widersprechen.

4) Ebenso bleibt die Tatsache bestehen, daß in den Versuchsprotokollen im Text bei den Versuchen 13—15 und 16—18 (p. 334/35) zwar die Gewichte der Versuchstiere, aber nicht die Gewichte der Kontrolltiere angegeben sind. Ich gebe zu, daß in der Uebersichtstabelle sämtliche

Tiergewichte angegeben sind, aber die ursprüngliche Tabelle, die für mich allein maßgebend sein konnte, war nicht so übersichtlich und enthielt nicht die Bezeichnung „Kontrollen“, wie die jetzt von den Autoren in neuer Form wiedergegebene Tabelle.

5) Meine sonstigen Einwände gegen die Friedberger-Putterschen Tierversuche scheinen mir durch die „Entgegnung“ nicht entkräftet worden zu sein.

Im übrigen habe ich den Eindruck, daß noch allerhand Mißverständnisse vorliegen. Trotzdem glaube ich auf eine nochmalige, eingehende Erörterung verzichten zu können, da es dem aufmerksamen und kritischen Leser der in Betracht kommenden Arbeiten nicht schwer fallen wird, über die hier erörterten Differenzen sich selbst ein Urteil zu bilden.

Sachliche Berichtigung hierzu.

Von **E. Friedberger** und **E. Putter**.

Zu 1: Ein Eingehen auf diesen Punkt liegt außerhalb des Rahmens einer sachlichen Berichtigung und erscheint uns außerdem zwecklos. Wir verweisen auf unsere Arbeit und die vorstehende Entgegnung und überlassen im übrigen das Urteil dem Leser.

Zu 2: Dold hat es offenbar trotz unseres genauen Literaturhinweises in unserer vorstehenden Entgegnung unterlassen, die betreffende Stelle im Original noch einmal nachzulesen, sonst wäre seine Behauptung unverständlich. Sie ist falsch. Es heißt dort wörtlich (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 50, 1911, p. 71, Beiheft):

„Wenn man nämlich nach Kontakt des Serums mit dem Kaolin eine Viertelstunde lang bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert, so erscheint das Serum völlig klar. Wenn man aber den klaren Abguß wiederum zentrifugiert, so erhält man wiederum einen nicht unbeträchtlichen Bodensatz aus dem scheinbar völlig klaren Serum: Auch nach einem weiteren viertelstündigen Zentrifugieren bei 4000 Umdrehungen ist das Kaolin noch nicht völlig entfernt, erst nach einer Stunde hatten wir keine sichtbaren Bodensätze mehr.“

Hier hat also bereits vor 10 Jahren der eine von uns die Forderung der restlosen Entfernung der Suspensionspartikel aus dem Serum aufgestellt.

Zu 3/4: Für eine Kritik unserer Versuche konnten lediglich die Tiergewichte in den Protokollen und in der Tabelle maßgebend sein. Wenn im Text einleitend von Gewichten von 230—250 g die Rede ist, statt 200—300 g, so kann es sich nur um einen Druckfehler handeln. Das mußte Dold aus der protokollarischen Tabelle ersehen, wo bei allen Tieren die Gewichte angegeben sind, die zwischen 200 und 300 g schwanken. Sachlich ist die Differenz bei 9 Tieren von 10—30 g nach unten, bei 6 Tieren von 30—50 g nach oben in verschiedenen Versuchsreihen gleichgültig, wie auch Dold wissen muß. Das Wesentliche sind die Gewichte innerhalb derselben Reihe.

Unsere ursprüngliche Tabelle war durchaus übersichtlich nach sachlichen Gesichtspunkten geordnet. Wenn dabei die Tiergewichte nicht so deutlich hervortraten wie jetzt, so wäre es eben Pflicht von Dold gewesen, auch nach dieser Richtung hin die Tabelle vor seiner Kritik sorgfältiger zu studieren. Er hätte dann selbst ein Bild bezüglich der Gewichte erhalten müssen, wie es unsere Erwiderung ihm jetzt bietet. Dann hätte er seine diesbezüglichen Ausführungen wohl vermieden.

p. 332, 334, 335 unserer Arbeit sind die Kontrollversuche im Text ausdrücklich als solche angegeben. In der Uebersichtstabelle p. 340 ff. sind die Kontrollversuche jedermann kenntlich durch Vakatzzeichen in den betreffenden Stäben der Tabelle. Daß auch Dold die

228 E. Friedberger und E. Putter, Sachliche Berichtigung hierzu.

Kontrollversuche tatsächlich als solche aufgefaßt hat, ergibt sich aus seiner ersten Entgegnung, wo er p. 213 irrtümlich schreibt: „Das Gewicht der Kontrolle ist gar nicht angegeben.“ Es ist uns also gänzlich unverständlich, was Dold mit diesen Ausführungen eigentlich will. Mit unseren Versuchsergebnissen haben sie doch absolut nichts zu tun.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4917

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts.]

Ueber das Friedmannsche Tuberkulose-Schutz- und -Heilmittel.

I. Mitteilung ¹⁾.

Literarisch-kritische und experimentelle Untersuchungen über den Friedmannschen Heil- und Schutzimpfstoff gegen die Tuberkulose.

Von Prof. Dr. Ludwig Lange.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Januar 1921.)

Inhaltsverzeichnis: Einleitung S. 230. — I. Literarisch-kritischer Teil S. 232. 1. Die Stellung der Schildkrötenbazillen zu den echten Tuberkelbazillen und ihre „Gefährlichkeit“ für den Menschen S. 232. a) Der I. Stamm Friedmanns S. 235. b) Künstliche Umwandlungsversuche echter Tuberkelbazillen in „Kaltblüter-Tuberkelbazillen“ S. 238. c) Der II. Stamm Friedmanns S. 244. d) Der III. Stamm Friedmanns S. 244. e) Die Virulenz des III. Stammes für Schildkröten S. 245. f) Die Virulenz des „Mittels“ für Schildkröten S. 246. 2. Die biologischen Verwandtschaftsbeziehungen der „Säurefesten“ und der sogenannten Kaltblütertuberkelbazillen zu den echten Tuberkelbazillen S. 248. 3. Das Verhalten der Friedmannbazillen im Meerschweinchen S. 252. a) Der I. Stamm S. 252. b) Der II. Stamm S. 261. c) Der III. Stamm S. 261. d) Die „Kultur“ S. 262. e) Das „Mittel“ S. 266. f) Aus Impfabzessen bei Menschen herausgezüchtete Stämme S. 269. g) Allgemeine Bemerkungen zu den Meerschweinchenversuchen S. 272. h) Zusammenfassung S. 274. 4. Das Verhalten der Friedmannbazillen in anderen Laboratoriumstieren S. 275. 5. Das kulturelle Verhalten der Friedmannbazillen S. 277. 6. Das mikroskopische Verhalten der Friedmannbazillen S. 279. — II. Eigene Untersuchungen S. 281. 1. Einleitung S. 281. 2. Das Wachstum der Friedmannbazillen in den Kulturen S. 281. 3. Das mikroskopische Verhalten des Mittels und der Reinkulturen S. 289. 4. Tierversuche mit dem Originalmittel an Meerschweinchen und Kaninchen S. 290. 5. Tierversuche mit aus dem Mittel herausgezüchteten Reinkulturen S. 293. A. Meerschweinchen S. 293. B. Kaninchen S. 303. C. Weiße Mäuse S. 304. D. Ratten S. 307. E. Hühner S. 309. F. Frösche S. 310. 6. Versuche mit einem aus Friedmannbazillen hergestellten Tuberkulin S. 313. — III. Zusammenfassung der Ergebnisse S. 316. A. Literarischer Teil S. 316. B. Eigene Untersuchungen S. 319. — IV. Benutzte Literatur S. 321.

1) Eine II. Mitteilung „Immunisierungsversuche mit dem Friedmannschen Tuberkulose-Schutz- und -Heilmittel“ von P. Uhlenhuth, L. Lange und H. E. Kersten wird nachfolgen.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.

16

Einleitung.

In den nachstehenden Ausführungen soll eingehend über den ersten Teil der umfangreichen Untersuchungen berichtet werden, welche über das Friedmannsche Tuberkulose-Schutz- und -Heilmittel in der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts von mir ausgeführt worden sind.

Das Gesundheitsamt hatte schon in den Jahren 1904 bis 1906 Veranlassung genommen, sich mit den sogenannten Friedmannschen Kaltblütertuberkelbazillen zu beschäftigen.

Schon bei den Untersuchungen von Weber und Titze (123) über die Immunisierung der Rinder gegen Tuberkulose wurden auch Kaltblütertuberkelbazillen und andere säurefeste Stäbchen herangezogen. Die Friedmannsche Kultur war damals dem Amte allerdings nicht zugänglich, dagegen hatte Taute (122) aus dem gleichen Bassin, in dem sich die Friedmannschen Schildkröten befanden, und ebenso aus dem Körper eines einer anderen Krankheit erlegenen Seeaales (*Conger vulgaris*), der mit der Schildkröte das Bassin geteilt hatte, Kulturen herausgezüchtet, von denen Weber und Taute annahmen, sie seien als identisch mit der Friedmannschen Kultur anzusehen¹⁾.

Die speziell mit diesen Kulturen an 3 Rindern ausgeführten Versuche hatten das Ergebnis, daß eines der vorbehandelten Tiere zur gleichen Zeit mit der Kontrolle einging, das zweite 17 Tage später als das Kontrolltier und das dritte allerdings am Leben blieb, aber schwer erkrankte und bei der 7 Monate nach der Nachimpfung vorgenommenen Schlachtung schwere Serosatuberkulose in Brust- und Bauchhöhle, schwere Drüsentuberkulose, geringgradige der Lungen, Milz und Nieren und außerdem einen Konglomerattuberkel im Gehirn mit Tuberkulose der Hirnhäute aufwies.

Mehr als eine nur mäßige Resistenzerhöhung wurde also nicht festgestellt; außerdem ist nach unserer heutigen Erkenntnis das Verhalten eines einzigen Kontrolltieres nicht genügend beweiskräftig.

1) Nach unserer heutigen Kenntnis der Sachlage ist diese damals durchaus berechtigte Annahme allerdings nicht zutreffend, schon aus dem Grunde, weil ein Hauptmerkmal der Friedmann-Bazillen, nämlich das Wachstum bei 37°, bei diesen Kulturen fehlte. (Der einzige von den 36 Stämmen der Autoren, der bei 37° wuchs, war aus einer Froschleber gewonnen worden.)

Der Friedmannsche Stamm, oder wie man heute richtiger sagen muß, die Friedmannschen Stämme, standen dem Amte auch für die Folgezeit zunächst nicht zur Verfügung. Erst nach der Freigabe des Mittels durch Friedmann am 25. Okt. 1913 war die Möglichkeit gegeben, die Bazillen aus den das Mittel darstellenden Aufschwemmungen herauszuzüchten. Am 14. Jan. 1914 wurde mit der bakteriologischen Untersuchung und Verimpfung von 2 an diesem Tage bezogenen Ampullen No. 2 und 4 begonnen.

Es sei gleich hier vorausgeschickt, daß die damaligen Versuche durch den Krieg eine jähe Unterbrechung erlitten. Bei Kriegsausbruch wurde der seit Mitte Juli im Urlaub befindliche Verfasser sofort zum Heeresdienst eingezogen; kurz danach, Anfang August, mußten sämtliche im Versuch befindlichen Tiere getötet werden. Die während meines Urlaubs gestorbenen Tiere wurden durch den damaligen wissenschaftlichen Hilfsarbeiter Dr. Roos, sämtliche nach Kriegsausbruch getöteten Tiere durch den seit vielen Jahren im Tuberkulose-Laboratorium des Reichsgesundheitsamts tätigen Präparator Schwerdtner genau obduziert. — Die Obduktionsbefunde wurden schriftlich niedergelegt, so daß sie nach meiner Rückkehr von mir doch verwendet werden konnten, da glücklicherweise der zwischen Impfung und Tötung der Tiere verflossene Zeitraum ein ausreichend langer war, um eine abschließende Beurteilung der Versuche zu ermöglichen.

Unsere Versuche hatten in erster Linie den Zweck, das Verhalten der Friedmannbazillen im Körper der gebräuchlichen Laboratoriumsversuchstiere festzustellen und so Anhaltspunkte über den Grad der Verwandtschaft zu echten Tuberkelbazillen zu gewinnen. Die Beziehungen zu diesen waren es ja gerade, die nicht nur für die Frage der Schädlichkeit für den Menschen, sondern ebenso für den Wert als Immunisierungs- und Heilmittel von ausschlaggebender Bedeutung sind.

Infolge der großen Zurückhaltung Friedmanns hinsichtlich bestimmter und scharfer Angaben über sein Mittel war es bis zu der am 27. Juli 1914 — also erst nachdem unsere eigenen in dieser Hinsicht durchgeführten Versuche des Jahres 1914 zu einem gewissen Abschluß gekommen waren — erfolgten Veröffentlichung Friedmanns (43) äußerst schwer, ja man darf wohl sagen unmöglich, sich ein klares Bild darüber zu machen, woraus der als Mittel benutzte Stamm

herrührte und was mit ihm seit seiner Auffindung vorgenommen wurde.

Durch diese Unklarheit war und ist es bedingt, daß sich in der Literatur und in privaten Aeüßerungen neben geradezu grotesk-phantastischen Vermutungen, wie z. B. daß Friedmann seinem Mittel oder den verwendeten Kulturen absichtlich echte Menschentuberkelbazillen in geringer Menge beifüge oder daß auch die als Verunreinigungen bekannten verschiedenen Bakterien eine absichtliche Beimengung darstellten — eine so große Zahl von einander widersprechenden Beobachtungen vorfinden.

Bevor daher an die Mitteilung unserer eigenen Befunde gegangen wird, dürfte es sich lohnen, eine objektive unparteiische, wenn auch kritische Zusammenstellung der Literaturangaben zu versuchen. Dabei soll von allem abgesehen werden, was sich auf die Frage der Schutz- oder Heilkraft der Friedmannbazillen bezieht. Nur die Frage der Kulturen und Stämme, ihres Verhaltens im Tierkörper, sowie ihre Beziehungen zu echten Tuberkelbazillen sollen in den Kreis der Betrachtung gezogen werden.

I. Literarisch-kritischer Teil.

1. Die Stellung der Schildkrötentuberkelbazillen zu den echten Tuberkelbazillen.

Die verwandtschaftlichen Beziehungen der Schildkrötentuberkelbazillen zu den echten Tuberkelbazillen sind, wie erwähnt, von grundlegender Bedeutung sowohl für die Frage der Schädlichkeit oder Gefährlichkeit der Bazillen an sich, als für ihren schützenden und heilenden Wert.

Für seinen ersten Stamm nahm Friedmann derartige, und zwar ziemlich enge Beziehungen an. Er und seine Anhänger betonten immer wieder die Aehnlichkeit seiner Schutzimpfung mit dem Jennerschen Verfahren und stellen dem im Rinde abgeschwächten Pockenvirus das in der Schildkröte abgeschwächte ursprünglich menschliche Tuberkulosevirus an die Seite.

Die Annahme der menschlichen Herkunft mußte zur Befürchtung führen, daß bei der Rückimpfung die Friedmannbazillen im menschlichen Körper entweder schon an sich eine abgeschwächte Tuberkulose erzeugen, oder durch irgendwelche Ursache ihre ursprüngliche Pathogenität und Virulenz wiedererlangen könnten.

Bevor man durch die Friedmannsche Veröffentlichung vom Juli 1914 Genaueres über die Herkunft des zu seinem Mittel verwendeten Stammes wußte, wurden denn auch in der Literatur eine Reihe von Stimmen laut, die die Anwendung des Mittels als gefährlich bezeichneten und sogar ein Verbot befürworteten.

Orth (93), der mit L. Rabinowitsch zwar nicht die aus der Schildkröte des Jahres 1902 herstammenden Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillen in Händen hatte, wohl aber von Friedmann vorbehandelte (schutzgeimpfte) Meerschweinchen auf ihre Resistenz gegenüber nachfolgender Infektion mit menschlichen und Rindertuberkelbazillen prüfte, kam auf Grund des Befundes an einem nicht nachinfizierten Tier (Meerschweinchen No. 7) zur Aufstellung folgender 3 Punkte:

1) Der Schildkrötentuberkelbazillus kann im Meerschweinchenkörper über Jahr und Tag lebend bleiben; 2) er erzeugt nur geringfügige Veränderungen bei diesen Tieren; 3) er erzeugt echte tuberkulöse Veränderungen bei diesen Tieren, muß also der Gruppe der Tuberkelbazillen zugerechnet werden (vom Verf. gesperrt).

Auf die Orthschen Befunde wird an einer späteren Stelle (siehe p. 257) noch näher eingegangen werden.

Bekannt ist die Stellungnahme Westenhöfers (124), der Friedmann gegenüber an der Fähigkeit der Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillen, im menschlichen Körper tuberkulöse Veränderungen herbeizuführen, festhielt.

Rabinowitsch (100) neigt auch dazu, die Friedmannbazillen für den echten Tuberkelbazillen nahe verwandt zu halten. Verdächtig in dieser Hinsicht erscheint ihr das Wachstum der Bazillen bei 37° und die Avirulenz für Schildkröten. Auf beide Punkte wird noch zurückzukommen sein. Auch sei in der Berliner Dermatologischen Klinik in der Wand eines Friedmannabszesses beim Menschen tuberkulöses Granulationsgewebe mit Riesenzellen festgestellt worden. Rabinowitsch sagt, die weitere Prüfung wird lehren, ob die Friedmannsche Kultur „etwa als ein abgeschwächter Säugetierbacillus mit besonderen kulturellen Eigenschaften zu bezeichnen sein wird“.

Sie weist auf die Diskussionsbemerkungen von Citron (36a) hin, der die Gefahr des Wiedervirulentwerdens hervorgehoben hatte und stimmt ihm bei. „Gerade bezüglich des Tuberkelbazillus und seiner verwandten Arten haben wohl alle Experimentatoren die Erfahrung gemacht, daß wenig

virulente oder fast avirulente Stämme im Tierkörper aus bisher unbekannten Gründen eine erhöhte Virulenz annehmen können“.

Brauer (13 u. 14) tritt den Befürchtungen von Westenhöfer und Rabinowitsch bei: „Der in dem Friedmannschen Mittel enthaltene säurefeste Stamm ist nach diesen Untersuchungen imstande, bei warmblütigen Versuchstieren Tuberkulose hervorzurufen und ist somit nicht unschädlich.“

Auch Meinicke (80), der von den Friedmannbazillen immer als von Tuberkelbazillen schlechthin spricht, bezeichnet das Mittel als „recht gefährlich“.

Aronson (3) reiht die Friedmannbazillen in eine Gruppe ein, die er unter der Bezeichnung „Tuberkelbazillen und nahestehende säurefeste Stäbchen, die von Hause aus für den Menschen avirulent sind“, zusammenfaßt.

Von denjenigen, die eine Pathogenität der Friedmannbazillen für den Menschen abstreiten, seien hier nur Kraus (70) und Kruse (73) genannt.

Bei ersteren findet sich der Satz: „Als Voraussetzung (für die Anwendung des Mittels) genügte mir, daß ich wußte und weiß, daß es sich um eine aus einem tuberkulösen Tier gezüchtete Kaltblütertuberkelbazillenkultur handelte, die — bei warmblütigen Versuchstieren — nicht Tuberkulose hervorruft, und ein Tuberkulin (natürlich nicht etwa ein zugesetztes) enthält.“ Kruse spricht von der völligen Unschädlichkeit des Stammes auch in hohen Dosen, bis zu 60 mg, für das Meerschweinchen.

Friedmann hat sich die Widerstände und Einwürfe, die auf Grund der befürchteten nahen Verwandtschaft zu echten Tuberkelbazillen gegen sein Mittel erhoben wurden, selbst zuzuschreiben. War er es doch selbst, der — für seinen ersten Stamm, und über seinen endgültigen Stamm hat er sich ja lange nicht klipp und klar ausgesprochen — an verschiedenen Stellen auf solche engen Beziehungen hinwies. Hier seien nur zwei Stellen wörtlich wiedergegeben.

Aus der Erwiderung an Moeller (31): „Alle 5 Säurefeste (von denen Moeller gesprochen) und der mit dem Moellerschen Blindschleichenbazillus identische Karpfenbazillus von Bataillon und Terre und der Froschbazillus sind Saprophyten. „Mit allen diesen hat der Schildkröten-tuberkelbazillus nichts gemein, denn er verweist sich nach Herkunft, Wirkungsweise und Aussehen der Kultur als ein echter, nur wundersam mitigierter Tuberkelbazillus“¹⁾.

Aus der Erwiderung (33) auf Libbertz und Ruppel (76) sei entnommen: „Aus der Tatsache, daß mit irgendwelchen echten Tuberkulose-

1) Vom Verf. gesperrt.

kulturen — und die Schildkrötentuberkelbazillen sind echte, ursprünglich vom Menschen stammende und nur in wundersamer Weise mitigierte Tuberkelbazillen¹⁾, wie sich aus meinen sämtlichen Arbeiten ergibt — vorbehandelte Tiere. . . .“

Für seinen 3. Stamm, dessen Aufschwemmungen eben das „Mittel“ darstellen, läßt Friedmann selbstverständlich diese engen genetischen Beziehungen zu den menschlichen Tuberkelbazillen fallen. Er spricht von ihm als von einer „avirulenten, aber den Krankheitserregern doch nicht zu ferne stehenden Zwischenstufe“. Für diese Zwischenstufe wird jedoch der Vergleich mit der Schutzpockenimpfung immer noch aufrechterhalten, wenn auch mit etwas mehr Einschränkung: „Es sei darauf hingewiesen, daß hier (bei der Schutz- und Heilimpfung) vielleicht ein ähnlicher Vorgang sich abspielt, wie bei der Impfung durch die Schutzpocken, deren Wirkung sich ja auch auf Jahre und Jahrzehnte erstreckt.“

Gegenüber den Befürchtungen, der Schildkrötentuberkulosestamm könne im menschlichen Körper wieder virulent werden, wird von Friedmann mit allem Nachdruck betont, daß es sich um einen Stamm handle, der nie Beziehungen zum menschlichen Organismus gehabt habe, also nie für ihn virulent gewesen sei und daher auch nicht virulent werden könne.

Es ist natürlich ohne weiteres zuzugeben, daß es heute, wo die Erfahrungen vieler Jahre und die Beobachtungen zahlreicher Forscher vorliegen, und nachdem namentlich auch Friedmann selbst sich über die Art und Herkunft seines Mittels eingehender geäußert hat, viel leichter ist, zu einem klaren Urteil über die Angelegenheit zu kommen, als bis zum Sommer 1914, und man wird Friedmann den Vergleich mit dem Jenner-Verfahren, auf den er in den Jahren 1903 und 1904 so großen Wert legte, keineswegs verübeln können.

a) Der I. Stamm Friedmanns.

Wenn wir nun auch wissen, daß der heute benutzte Stamm von Schildkrötentuberkelbazillen mit dem im Winter 1902 gewonnenen nichts unmittelbar zu tun hat, so dürfte es trotzdem von Interesse sein, festzustellen, ob die da-

1) Vom Verf. gesperrt.

malige Annahme der menschlichen Herkunft des ersten Schildkrötentuberkulosestammes einer kritischen Nachprüfung standhält.

Die ersten von Friedmann (25—28) entdeckten Fälle von Schildkrötentuberkulose betrafen 2 Seeschildkröten (*Chelone corticata*) aus dem Berliner Aquarium.

Die erste Schildkröte, die am 6. XII. 1902 starb, war am 4. IX. 1902 bei Grado gefangen worden, einige Tage in einem Becken der Station in Rovigno gewesen und am 10. IX. 1902 nach Berlin geschickt worden, wo sie bis 6. XII. 1902 mit toten Plötzen gefüttert worden war; die zweite, am 3. I. 1903 gestorbene Schildkröte war schon seit 2—3 Jahren im Berliner Aquarium in einem Becken isoliert gehalten worden und mit der ersten tuberkulösen Schildkröte niemals in Berührung gekommen¹⁾.

Die erste Schildkröte wies „Tuberkulose der ganzen rechten Lunge²⁾ mit großer Kaverne“, die zweite „Tuberkulose beider Lungen mit zahllosen miliaren Herden und größeren verkäsenden Herden“ auf. Dieser vielleicht nicht ganz belanglose Unterschied im pathologisch-anatomischen Bild gewinnt eine Bedeutung, wenn man die von Friedmann (26; p. 444) ausgesprochene Vermutung über die Ansteckung der Tiere durch ihren nachgewiesenermaßen an offener Tuberkulose leidenden Wärter daneben hält.

Da die beiden Tiere nie miteinander in Berührung gekommen sind, mußten sie wohl beide unabhängig voneinander durch den Wärter infiziert worden sein. Während die zweite Schildkröte schon seit 2—3 Jahren im Berliner Aquarium gehalten worden war, befand sich die erste nur über den kurzen Zeitraum von nicht ganz 3 Monaten (84 Tagen) unter der vermuteten Ansteckungsgefahr.

Nach den Erfahrungen beim Menschen und bei den Versuchstieren wird man aber den Befund einer großen Kaverne bei Schildkröte I gegenüber dem bei der zweiten Schildkröte erhobenen als den älteren ansehen müssen, wie er auch der Ausdruck einer gewissen Virulenzabschwächung des

1) Gleichzeitig mit der ersten Schildkröte wurde in Grado eine zweite (Ia) gefangen, die bis zum 10. IX. 1902 mit ihr zusammen in einem Becken gehalten worden war, dann 35 Tage lang allein in einem Becken saß und am 15. X. 1902 nach Berlin geschickt wurde, wo sie ab 17. X. 1902 mit der Schildkröte I das Becken teilte. Bei ihrer Sektion am 23. XII. 1902 erwies sie sich makro- und mikroskopisch als ganz frei von Tuberkulose; ebenso verliefen alle Zuchtungsversuche völlig negativ.

2) Neben der großen Kaverne fast die ganze rechte Lunge im Stadium der grauroten bzw. grauen Hepatisation. Die Alveolen ausgefüllt mit Unmassen von Bazillen.

Erregers oder einer erhöhten Resistenz des Infektionsträgers — wenigstens bei Meerschweinchen — ist (Siebert, 110; Orth, 91; Römer, 102a u. a., von Löwenstein bestritten). Jedenfalls ist man veranlaßt, aus dem Befunde einer Kaverne auf einen chronischen Verlauf zu schließen. Die Ansteckung der ersten Schildkröte durch den tuberkulösen Wärter muß daher schon in Anbetracht der Kürze der Expositionszeit als wenig wahrscheinlich bezeichnet werden.

Auch die Ergebnisse der von Friedmann (27) ausgeführten Schildkröteninfektionen unterstützen den eben ausgesprochenen Zweifel an der humanen Herkunft der Infektion.

Friedmann hatte am 4. I. 1903 von 4 Sumpfschildkröten (*Emys europaea*) 2 mit Aufschwemmungen von fein zerquetschten käsigen Knötchen aus der Lunge der am Tage vorher gestorbenen Ausgangsschildkröte II (— eigentlich ist diese als die erste zu bezeichnen, da ja aus der am 6. XII. 1902 verendeten ersten Schildkröte keine Züchtung vorgenommen worden war¹⁾ —) in die Lunge und 2 mit zerkleinertem Lungenmaterial unmittelbar subkutan in eine Hauttasche an der rechten Schulter geimpft.

Von den beiden in die Lunge geimpften Tieren wies das eine, nach 51 Tagen gestorbene, eine vollständige Infiltration der Lunge mit zahllosen käsigen Knötchen auf der Oberfläche, das andere, nach 90 Tagen getötete, eine Durchsetzung der Lunge mit käsigen Knötchen auf. (Von den übrigen Organbefunden sei hier abgesehen.)

Von den subkutan geimpften Schildkröten war bei der ersten, nach 60 Tagen moribund getöteten die linke Lunge frei, die rechte zeigte zahlreiche Knötchen von fester Konsistenz, während bei dem anderen, nach 76 Tagen getöteten Tiere Angaben über den Lungenbefund fehlen, woraus wohl geschlossen werden darf, daß sie frei von tuberkulösen Veränderungen war.

Da in den Lungenknötchen der Ausgangsschildkröte II die Tuberkelbazillen in großen Massen vorhanden waren, war die Infektion bei den Versuchsschildkröten der Menge nach eine weit stärkere, als man für eine Spontaninfektion, zumal wenn sie vom Menschen ausgegangen sein sollte, annehmen dürfte. Dazu kommt, daß bei einer etwaigen Umwandlung der humanen Tuberkelbazillen und der Anpassung an den Kaltblüterorganismus die Bazillen in der Ausgangsschildkröte

1) Piorkowski (36b, 37, 95) erhebt den Anspruch, die ersten Kulturen des Schildkrötentuberkelbazillenstammes herausgezüchtet zu haben, was von Friedmann bestritten wird. Auch P. (95) spricht immer nur von einer (großen) Schildkröte.

eine deutlich erhöhte Virulenz für diese Tierart gewonnen haben mußten. Auch die gewaltsamere Art des Hineingelagens der Bazillen in die Lunge bei den Versuchstieren ist zu berücksichtigen¹⁾.

Unter diesen Umständen erscheint die Lebensdauer der beiden intrapulmonal infizierten Versuchsschildkröten von 51 bzw. 90 Tagen (das 2 Tiere getötet!), im Vergleich mit der Aufenthaltsdauer von 84 Tagen der Schildkröte I in Berlin oder dem Verlauf von im ganzen 90 Tagen seit ihrer Gefangennahme als auffallend lange.

Bei den später mit Reinkulturen infizierten Versuchsschildkröten zeigte sich allerdings ein sehr rascher Verlauf der Infektion. Am 19. I. 1903 wurden 3 große Landschildkröten, *Testudo graeca*, mit je $\frac{1}{12}$ des Belages einer üppig gewachsenen Reinkultur, also jedenfalls einer mehreren Oesen entsprechenden — den Gesamtbelag wird man auf 20 bis 30 Oesen schätzen können — Menge infiziert. Die 2 unmittelbar in die Lunge geimpften Tiere starben beide nach 29 Tagen und zeigten starke Infiltration der Lunge mit stellenweiser Verkäsung; bei der dritten, intraperitoneal geimpften und nach 25 Tagen gestorbenen Schildkröte wies die Lunge keine nennenswerte Veränderung auf, doch fanden sich mikroskopisch stellenweise dichte Bazillenhäufen.

b) Künstliche Umwandlungsversuche echter Tuberkelbazillen in Kaltblütertuberkelbazillen.

Die Frage nach der Möglichkeit einer Umwandlung der menschlichen Tuberkelbazillen in Kaltblütertuberkelbazillen hat wegen ihrer Wichtigkeit in biologischer und systematischer Hinsicht eine große Zahl von Forschern beschäftigt. Bezüglich der Forschungsergebnisse bis 1905 sei auf die Zusammenstellung von Weber und Taute (120) verwiesen. Die aus der kritischen Betrachtung der bis damals vorliegenden Literaturangaben gezogenen Schlüsse dieser Autoren, wo-

1) Die größere Ausbreitung der Bazillen und der krankhaften Veränderungen im Körper der Versuchsschildkröten, während bei Schildkröte I die Erkrankung auf die eine Lunge beschränkt war, ist durch die bei der Injektion gesetzten Gefäßverletzungen erklärlich und vielleicht auch auf eine gewisse Steigerung der Virulenz zurückzuführen.

nach eine Umwandlung noch in keinem Fall einwandfrei festgestellt ist, werden durch ihre eigenen Versuche bestätigt. Auf Frösche verimpfte echte Tuberkelbazillen haben sich bis zu $9\frac{1}{4}$ Monaten im Froschkörper unverändert gehalten.

Man hat zu solchen künstlichen Umwandlungsversuchen die verschiedensten Arten von Kaltblütern herangezogen.

Für die uns beschäftigende Frage sind vor allem die an Schildkröten vorgenommenen Versuche von Interesse.

Sion (111) (bei Weber und Taute angeführt) hatte einer Schildkröte große Mengen einer wahrscheinlich humanen Tuberkulosekultur in einen Beinmuskel verimpft: Er fand die Bazillen nach $9\frac{1}{2}$ Monaten noch unverändert vor. Ein mit der wiederentnommenen Kultur geimpftes Meerschweinchen erlag nach 65 Tagen einer generalisierten Tuberkulose.

E. Gottstein (50) impfte, veranlaßt durch die Friedmannschen Angaben, Schildkröten mit Aufschwemmungen von menschlichen, Rinder- und Blindschleichen-Tuberkelbazillen. Bei den mit den humanen und bovinen Bazillen infizierten Tieren sah er weder irgendwelche Organveränderungen noch eine Vermehrung der Keime, wogegen die Blindschleichenbazillen starke Vermehrung, besonders in der Leber zeigten, in der sich auch Zellnekrosen, Hämorrhagien und fibröse Schwarten fanden. (Auch bei Fröschen kam Gottstein zu negativen Ergebnissen hinsichtlich einer Umwandlung.)

Moriya (87) konnte an 14 Reinkulturen, die er aus seinen intraperitoneal geimpften Kaltblütern (Schildkröten und *Bufo vulgaris*) herausgezüchtet hatte und worunter sich Stämme befanden, die 4 Schildkrötenpassagen durchgemacht hatten, keine Umwandlung feststellen. Er fand bei den Tieren wohl Knötchen, und zwar hauptsächlich auf dem Peritonealüberzug und in der Leber; aber ebensolche Knötchen treten auf, wenn zur Impfung abgetötete Tuberkelbazillen (4 Stunden auf 80° erhitzt) genommen worden waren.

Ueber angeblich gelungene Umwandlungsversuche¹⁾, allerdings nicht an Schildkröten, sondern an Schlangen und Blindschleichen, berichten Sörgo und Suess (114). Sie nahmen absichtlich ganz alte, monatelang bei Zimmertemperatur gestandene Reinkulturen humaner Herkunft, die bei künstlicher Züchtung nicht mehr vermehrungsfähig waren. In 3 Fällen fanden sie Umänderungen einzelner Eigenschaften. Die Verfasser sagen, daß eine Umwandlung sehr selten eintrete, und sie glauben nicht, daß es sich dabei um eine allmähliche Anpassung an den neuen Wert handle. Denn hiergegen sprächen folgende Gründe: 1) Die große Seltenheit der Umwandlung. 2) Bei Anpassung müßte allmählich wieder ein Verlust der „angepaßten“ Eigenschaften ein-

1) Ueber „kulturelle“ Umwandlung siehe p. 278.

treten. 3) Bei Anpassung müßten bei der gleichen Tierart alle angepaßten Stämme in der gleichen Weise verändert sein.

Die Punkte 2) und 3) trafen aber für ihre 3 umgewandelten Fälle nicht zu.

Man kann gegenüber den Mitteilungen von S o r g o und S u e s s den Verdacht nur schwer unterdrücken, daß es sich wenigstens bei dem einen Fall (No. III), in welchem „typische“ Kaltblütertuberkelbazillen erhalten wurden, um schon spontan in dem betreffenden Tier enthaltene säurefeste Bazillen im Sinne W e b e r s und T a u t e s gehandelt habe, zumal — worauf schon T s u k i y a m a (116) hingewiesen hat — eine der Schlangen noch, bevor sie geimpft war, an spontaner Kaltblütertuberkulose eingegangen ist.

Die verwendete 9 Monate alte Kultur stammte ursprünglich aus Sputum, hatte eine Meerschweinchenpassage durchgemacht, war 7¹/₂ Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden und zeigte eine gelbe Färbung. Die damit geimpfte Aeskulapschlange ging schon 57 Tage nach der Impfung ein. Bei Weiterverimpfung einer 4 Wochen alten Kultur aus Eiernährboden aus der Impfstelle auf eine Ringelnatter fand sich dann das typische Bild der Kaltblütertuberkulose mit dem intraazinösen, von dichten Haufen säurefester Bazillen erfüllten nekrotischen Herden in der Leber.

Wenn man die Erfahrungen heranzieht, die man bei der Meerschweinchenverimpfung von alten Tuberkelkulturen, die sich in der Kultur nicht mehr weiterbringen lassen, macht, so erscheint die oben erwähnte Lebensdauer der Schlange von nur 57 Tagen als derart kurz, daß man sagen müßte, die Schlangen sind für alte Tuberkelbazillenkulturen weit empfänglicher, als selbst Meerschweinchen. Ehe nicht durch mehrfache positive Versuche die Berechtigung dieser Annahme nachgewiesen ist, dürfte sich eine viel einfachere Erklärung für den überraschenden Ausfall des S o r g o - S u e s s s c h e n Experimentes in folgender Weise geben lassen: Die in die Schlange eingebrachten Tuberkelbazillenmassen haben als Fremdkörper toxisch gewirkt und dabei die normalerweise schon vorhandenen Kaltblüterbazillen für das Tier virulent gemacht (aktiviert).

W e b e r und T a u t e (122) haben als erste darauf hingewiesen, daß die Kaltblütertuberkelbazillen zu üppigem Wachstum im Kaltblüterorganismus gelangen, wenn durch irgendeine Schädigung die Widerstandskraft des Organismus herabgesetzt

ist. Es wäre das ein Vorgang, der z. B. dem Auftreten von Paratyphusinfektionen bei mit Trypanosomen geimpften Mäusen oder Meerschweinchen, oder den von Uhlenhuth und Haendel bei ihren Tumorverimpfungen auf Ratten beobachteten Gärtnerinfektionen an die Seite zu stellen wäre¹⁾.

Sorgo (113) selbst führt dagegen die Entstehung der neuen Tuberkelbazillennester auf eine Mutation im Sinne von de Vries zurück.

Tsukiyama (116) konnte die Befunde von Sorgo und Suess (114) bei gleicher Versuchstechnik in keinem Falle bestätigen.

Ohne jede Schwierigkeit müßte die Umwandlung menschlicher Tuberkelbazillen in solche vom Kaltblütertypus vor sich gehen, wenn man die Aeüßerungen Piorkowskis in der Diskussion zum Friedmannschen Vortrag am 13. XI. 1913 (36b) liest.

Piorkowski gab an, daß er nach Verfütterung von tuberkulösem Auswurf bei 2 Fröschen und einer „kleinen“ (wohl Sumpf-) Schildkröte Tuberkulose erzeugt habe. Die daraus gewonnenen Kulturen hätten das gleiche rahmige Wachstum wie die Friedmannschen Kulturen gezeigt. Piorkowski glaubt deshalb „berechtigt zu sein, zu sagen, daß die von der großen Schildkröte aus dem Berliner Aquarium reingezüchteten Tuberkelbazillen vom Menschen stammen, also dem Typus humanus zuzurechnen sind“ (p. 2330).

An einer späteren Stelle (95) teilt Piorkowski mit, daß bei Verimpfung von menschlichem, tuberkelbazillenhaltigem Auswurf auf Teich- und kleine Sumpfschildkröten die „Passagen ergebnislos blieben“. Bei größeren Tieren, den griechischen Landschildkröten und den Cheloniden der heißen und gemäßigten Zone, trete dagegen regelmäßig eine Infektion mit letalem Ausgang nach 4—6 Monaten (man vergleiche hiermit die 84 Tage der Friedmannschen Schildkröte I und die 57 Tage der Sorgo-Suessschen Aeskulapschlange!) ein. Aus den Lungen gelängen immer wieder Passagezüchtungen. Die Uebertragung auf Meerschweinchen hatte „denselben negativen Erfolg betreffs der Organveränderungen“.

Nicht an Schildkröten, sondern an Eidechsen, Fröschen, Ringelnattern und Kreuzottern haben Jansco und Elfer (55) mit 7 humanen Stämmen zahlreiche Infektionsversuche, die bis zu 5 Passagen fortgesetzt wurden, gemacht; in keinem einzigen Falle gelang ihnen eine Annäherung an den Kaltblütertypus.

Es erhebt sich nun allerdings die Frage, ob nicht möglicherweise die Schildkröten (Chelonier) unter den Kaltblütern, richtiger gesagt wechselwarmen Tieren, insofern eine Ausnahme-

1) Wir werden auf ähnliche Beobachtungen bei der Wiedergabe unserer eigenen Versuche noch zu sprechen kommen. (Beziehungen von Friedmannimpfungen zur Meerschweinchenseuche.)

stellung einnehmen, als eben gerade bei ihnen und bei ihnen allein, eine solche Umwandlung, und zwar in verhältnismäßig rascher Zeit, erfolgt. Gegen eine solche Ausnahmestellung spricht aber die von Friedmann (27) selbst festgestellte Tatsache der Pathogenität seiner Bazillen für die untersuchten übrigen Kaltblüter (Ringelnattern, Blindschleichen, Eidechsen und Frösche). Zwischen den einzelnen Spezies scheinen allerdings gewisse fast typische Unterschiede zu bestehen hinsichtlich des Hauptortes der Niederlassung und der Vermehrung der Bazillen.

So stellte bei den beiden Ringelnattern die Leber einen Prä-dilektionsort vor, während die Lunge nur bei dem einen Tier größtenteils mit zahlreichen Knötchen infiltriert war und sich mikroskopisch eine hochgradigste Vermehrung der Tuberkelbazillen zeigte: „Alveolen größtenteils von dichten Bazillenschwärmen erfüllt, diffuses tuberkulöses Granulationsgewebe mit Bazillenmassen, die nur das glatte Muskelgewebe verschonen.“ Bei den 6 ebenso wie die Ringelnattern intraperitoneal infizierten Blindschleichen fand sich, daß nur bei einer die Lungen infiltriert und mit käsigen, kernarmen, bazillenhaltigen Knötchen durchsetzt waren. Bei den 2 Eidechsen war in ausgesprochenem Maße die Leber der Sitz enormer Bazillenmassen, während die Lungen frei waren. Uebrigens war auch bei den Versuchsschildkröten (s. o.) neben der Lunge die Leber mit enormen Bazillenmassen erfüllt. Von den 9 Fröschen war bei zweien hauptsächlich die Leber, daneben die Lunge, bei einem Leber, Milz und Lunge in ziemlich gleichem Grade der Sitz der Bakterien, während bei den übrigen Tieren die inneren Organe mehr oder weniger frei oder nur wenig bazillenhaltig waren.

Wir möchten angesichts dieser Unterschiede darauf hinweisen, daß es sich eben um zunächst an die Schildkröte angepaßte Bazillen handelte, und daß schon Weber und T a u t e (122) durch Verimpfung ihrer Kaltblütertuberkelbazillen auf Schildkröten feststellten, daß bei diesen Tieren die Lungen im Gegensatze zu dem Verhalten der Frösche eine Prä-dilektionsstelle für die Ansiedelung säurefester Stäbchen zu sein scheinen. Das liege aber an der Tierspezies, und nicht am Krankheitserreger¹⁾.

Ueber die Gründe für dieses eigentümliche Verhalten der Schildkrötenlunge lassen sich nur Vermutungen aufstellen.

1) v. Betegh (9) faßt die Kaltblütertuberkelbazillen nur als an verschiedene Tierspezies angepaßte Varietäten einer selbständigen Art auf.

Bei den Friedmannschen Ausgangs- wie bei den Versuchsschildkröten waren in den erkrankten Lungenpartien alle Alveolen mit Bazillenschwärmen ausgegossen. (Den Befund an den Lungen als Miliartuberkulose zu bezeichnen, dürfte nicht ganz sachgemäß sein; es handelt sich mehr um tuberkulöse Pneumonie.) Man könnte nun daran denken, daß die geringe Beweglichkeit oder Exkursionsfähigkeit der zwischen den festen Rücken- und Bauchschilden eingespannten Schildkrötenlunge den Bazillen besonders zusagende Bedingungen schafft und als Analogie die Gefährdung der wenig beweglichen Lungenspitzen beim Menschen (Bacmeister, 5), vielleicht auch den Rippendruck nach Hart heranziehen. Die Schildkröten, die die Luft verschlucken müssen, können sehr lange ohne neue Luftaufnahme bleiben, und es wäre möglich, daß sich hierdurch eine besonders geeignete Sauerstoffspannung ergibt. [Reichlicher Sauerstoff, kräftige Durchlüftung ist den Tuberkelbazillen ebensowenig zusagend, wie gänzlicher Mangel, z. B. bei Pneumothorax¹⁾]. Es wäre auch möglich, daß die eigenartige Mischung von venösem mit arteriellem Blut, wie sie bei den Cheloniern statthat, eine Rolle spielt.

Als Beitrag zur Frage des Verhaltens von Schildkröten gegenüber der Infektion mit echten Tuberkelbazillen kann auch eine gelegentliche Mitteilung Friedmanns (29) selbst herangezogen werden.

Friedmann hat im Jahre 1903, aber von einer anderen Fragestellung ausgehend, Schildkröten mit echten Tuberkelbazillen infiziert. Er gibt an, daß geeignete Vorbehandlung von Schildkröten mit lebenden Säugetiertuberkelbazillen — „es wurde bereits eine größere Zahl von menschlichen und Rindertuberkelstämmen geprüft“ — gegen eine Dosis Schildkrötentuberkelbazillen, der die Kontrolltiere in 1–2 Wochen erlagen, dauernd zu schützen vermögen. Er werde später ausführlich darauf zurückkommen. Es ist bedauerlich, daß dies nicht geschehen ist. Man ist aber wohl berechtigt, aus dieser Angabe allein zu schließen, daß bei diesen Versuchen eine Umwandlung in die so sehr pathogenen Schildkrötenbazillen nicht eingetreten sein kann. Die betreffenden Versuche sind von höchstem theoretischen Interesse, und man würde Friedmann zu Dank verpflichtet sein, wenn er ihre Bekanntgabe noch nachholen würde.

So stehen sich also sehr widersprechende Ansichten über die Pathogenität der menschlichen Tuberkelbazillen bzw. des menschlichen Sputums für Schildkröten gegenüber.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die überwiegende Mehrzahl der Forscher keine Pa-

1) Der Einfluß der Ruhigstellung und des herabgesetzten Gasaustausches würde auch eine Erklärung für die bekannte starke Vermehrung der Tuberkelbazillen in den Kavernen mit ihren starren Wänden und dem verminderten Gasaustausch abgeben.

thogenität und keine Umwandlung feststellen konnte. Man muß es also nach allem zum mindesten für die I. Schildkröte Friedmanns als höchst unwahrscheinlich bezeichnen, daß ihre Erkrankung auf den tuberkulösen Wärter, also auf eine Infektion mit menschlichen Tuberkelbazillen zurückzuführen ist. Und da der pathologische Prozeß bei der I. Schildkröte gegenüber dem bei der II. Schildkröte erhobenen als ein mindestens gleicher — wenn nicht weiter vorgeschrittener — zu bezeichnen ist, gelten diese Schlußfolgerungen auch für das Tier No. II, aus dem ja der 1. Stamm Friedmanns gewonnen wurde.

Auch Moeller (85) „möchte bezweifeln, daß der I. Schildkrötenstamm ein direkter Abkömmling der Tuberkulose des Dieners ist.“

Wir sind auf den Ursprung des ersten Friedmannschen Stammes nur deswegen so genau eingegangen, weil, wie erwähnt, die Annahme seiner menschlichen Abkunft einen Grundpfeiler für die ganze Theorie der Friedmannschen Behandlung abgab.

c) Der II. Stamm Friedmanns.

Für den II. Friedmannstamm, über den sich Friedmann (30) Anfang 1904 in der Polemik gegen Moeller äußert¹⁾, und dessen Temperaturoptimum und Maximum 22 bzw. 25° C betrug, ist über eine derartige „menschliche“ Herkunft nichts gesagt.

d) Der III. Stamm Friedmanns.

Für den III. zum „Mittel“ benutzten Stamm, über den wir Genaueres erst Ende Juli 1914 (43) erfuhren, lehnte es Friedmann schon im Jahre 1912 ausdrücklich ab, daß er vom Menschen herrühre (36 b), denn anders kann man seine folgende Diskussionsbemerkung doch kaum verstehen:

1) p. 167: „Nachdem ich lange von den verschiedensten zoologischen Gärten, Aquarien, Händlern Schildkröten bezogen und auf Tuberkulose vergeblich untersucht habe, ist es mir endlich vor einiger Zeit gelungen, von außerhalb ein Exemplar einer seltenen Schildkrötenspezies zu erhalten, aus deren typisch erkrankten Organen ich einen zweiten Schildkrötentuberkulosestamm herauszüchtete.“

p. 2334: „Herrn Citron kann ich, wenn er die Befürchtung hatte, daß meine avirulenten Bazillen „wieder“ virulent werden könnten, beruhigen, denn es sind nicht, wie er wohl verstanden hat, künstlich abgeschwächte menschliche oder Persuchtbazillen, sondern, wie nunmehr wohl allen Herren klar ist, Tuberkelbazillen von bereits natürlicher Avirulenz, die also nie virulent gewesen sind.“

Der III. Stamm wurde aus einer im Januar 1906 spontan gestorbenen Landschildkröte (*Testudo graeca*) gewonnen.

Die ihm zunächst noch anhaftende knötchenbildende Eigenschaft ging durch lange Zeit konsequent alle paar Tage durchgeführte Umzüchtung von Nährboden zu Nährboden verloren. [Von „Passagen“, worunter man allgemein doch Durchschickungen durch den tierischen Organismus versteht, ist im Gegensatz zu den Angaben in den dem Mittel damals beigegebenen „Indikationen“ (38) nichts erwähnt.] Der Veröffentlichung vom Juli 1914 ist eine große Zahl von Protokollen über Versuche an Meerschweinchen beigelegt. Der frisch gewonnene Stamm wurde außerdem auch an Kaninchen und Schildkröten geprüft.

e) Die Virulenz des III. Stammes für Schildkröten.

Die frisch aus der Schildkröte gezüchteten Kulturen und ihre ersten Abkömmlinge erwiesen sich für Landschildkröten bei subkutaner und intraperitonealer Impfung als recht virulent.

Die Tiere verloren bereits in der 2. Woche nach der Impfung die Freßlust und gingen nach $\frac{3}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Monaten an allgemeiner Tuberkulose zugrunde.

Nach Verimpfung der Kultur auf Meerschweinchen („graues“ Tier, subkutan geimpft 20. II. 1906, getötet 10. V. 1906) wurden am 10. V. 1906 Stückchen der Leber, Milz und Leistendrüsen dieses Tieres einer Landschildkröte in eine Hauttasche eingeimpft. Die Schildkröte wies bei der Tötung am 1. VIII. 1906 einen kleinerbsengroßen Abszeß an der Impfstelle und in den makroskopisch normalen inneren Organen bei mikroskopischer Untersuchung mitten im normalen Gewebe Häufchen von Rundzellen mit Bazillen auf.

Da schon in den weißgrauen Knötchen der Leber und Milz des Ausgangsmeerschweinchens mikroskopisch nur spärliche, in Körnchen zerfallende Bazillen gefunden wurden, ist unseres Erachtens der fast negative Ausfall der Schildkrötenimpfung nicht überraschend.

Die fortdauernde Ueberimpfung auf künstliche Nährböden machte sich schon nach etwa 10 Monaten insofern bemerkbar,

als Schildkröten, die Mitte Nov. 1906 geimpft wurden, am Leben blieben und bei der Tötung nach 3 und 4 Monaten in den inneren Organen frei von makroskopisch erkennbaren tuberkulösen Veränderungen waren, wenn sich auch mikroskopisch in Lunge, Leber, Milz und Nieren Rundzellenanhäufungen mit vereinzelt, meist interzellulär gelegenen säurefesten Stäbchen fanden.

f) Die Virulenz des „Mittels“ für Schildkröten.

Soweit über die Schildkrötenvirulenz der Bazillen des „Mittels“, die also inzwischen noch durch ungezählte weitere künstliche Kultivierungen dem Schildkrötenorganismus immer mehr entfremdet waren, Angaben vorliegen, stimmen sie darin überein, daß die Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillen nunmehr ganz avirulent für diese Tiere geworden sind.

So berichtet Barnes (6), der im Juni 1913 mit einer Glyzerinagarkultur aus dem Glutäalabszeß eines Patienten einer „spotted turtle“ von 240 g, also wohl eine Chresimys-Art (Landschildkröte), und im Juli 1913 mit einer aus dem Mittel unmittelbar herausgezüchteten Gelatineagarkultur eine „large snapping turtle“, also Chelydra serpentina¹⁾ von etwa 2000 g Gewicht (solche Tiere können bis zu 4 Zentner schwer werden) subkutan geimpft hatte, daß sich beide Tiere wohlbefunden hatten und bei der Ende August 1913 erfolgten Tötung in mikroskopischen Schnitten in der Umgebung der Impfstelle keine Zeichen tuberkulöser Veränderungen aufwiesen.

Lydia Rabinowitsch (97) konnte mit den Friedmannbazillen keine tuberkulösen Veränderungen an Schildkröten hervorrufen. Auf Grund dieser fehlenden Pathogenität im Zusammenhange damit, daß die Bazillen bei 37° wachsen, äußert sie sich dahin, daß die Bezeichnung der Friedmannbazillen als „Schildkrötentuberkelbazillen“ nicht ganz zutreffend sei.

Richtig ist es, daß man die Friedmannbazillen genauer als dem Schildkrötenkörper künstlich entfremdete ursprüngliche Schildkrötentuberkelbazillen benennen müßte. Aus dem geschilderten Verhalten aber den Schluß zu ziehen, daß es sich um abgeschwächte Säugetiertuberkelbazillen handle, dürfte nicht angehen.

1) Ich verdanke die zoologischen Bezeichnungen der Tiere der freundlichst gewährten Auskunft des Inspektors des Berliner Aquariums Herrn Weiß.

Außer Friedmann hat auch A. Moeller (82 und 85) aus einer spontan gestorbenen Schildkröte einen Schildkrötentuberkelbazillenstamm herausgezüchtet. Diese Schildkröte erhielt er im März 1913 aus einem Berliner Tier-exportgeschäft.

Durchgreifende Unterschiede gegenüber den Fisch- und Blind-schleichenbazillen waren bei diesem Stamm nicht vorhanden, aber die Bazillen gediehen bei 35—37°, die andern Kaltblütertuberkelbazillen jedoch nicht mehr.

Also ist auch in diesem Falle von Anfang an die Wachstumsmöglichkeit bei Brüttemperatur vorhanden gewesen.

Es ist nun von Interesse, daß Moeller von dem Inhaber des betreffenden Geschäftes die Mitteilung erhielt, Schildkröten erkrankten überhaupt gar nicht so selten an den Lungen. Der Tierhändler will beobachtet haben, daß die so erkrankten Tiere bald die Freßlust verlieren und auch ein Einfallen oder Einsinken der Brust, besonders über den oberen Lungenpartien, zeigten (!).

Kann man nun wirklich für alle diese spontan an tuberkulösen Erscheinungen erkrankten Schildkröten eine Infektion mit menschlichen oder Säugetiertuberkelbazillen annehmen? Das würde diese Tiere in eine Reihe mit den Affen stellen, die ja bekanntlich in der Gefangenschaft meist an Tuberkulose menschlichen und bovinen Ursprungs erkranken. Bei den Affen handelt es sich aber doch um den Menschen entwicklungsgeschichtlich und zoologisch viel näher stehende Arten. Und bei den Papageien, für welche nach Koch und Rabinowitsch neben der Infektion mit Geflügeltuberkelbazillen nur solche mit menschlichen Tuberkelbazillen nachgewiesen ist, ist für die in „häuslicher“ Gefangenschaft gehaltenen Tiere durch den nahen Verkehr mit den Menschen eine solche Infektion einigermaßen erklärlich. Inwieweit für die in zoologischen Gärten befindlichen Papageien dieser enge Zusammenhang mit menschlichen Infektionsquellen besteht, ist allerdings schwer abzuschätzen. Aber schließlich waren alle diese Tiere einmal in ihren Heimatländern, bevor sie zu den Tierhändlern kamen, in naher Berührung mit den betreffenden Vogeljägern und Fallenstellern.

Man wird nun für viele Schildkröten das gleiche sagen können. Aber gerade an der ersten Schildkröte, für die wir, wie wohl nur selten, die ganze Vor-

geschichte von ihrer Gefangennahme ab kennen, glauben wir gezeigt zu haben, daß aus der Betrachtung der zeitlichen Verhältnisse heraus im Zusammenhalte mit den Ergebnissen experimenteller Infektionen, für eine so hochgradige Erkrankung, wie sie vorgefunden wurde, die menschliche Ansteckungsquelle so gut wie nicht in Frage kommen kann.

Man muß also im Hinblick auf den ersten Stamm Friedmanns, aber auch für seinen dritten Stamm, dem Ausspruche Moellers (85) beistimmen, der sagt: „So neige ich der Meinung zu, daß, wenn dieser Bazillus wirklich ein echter, nur wundersam mitigierter Tuberkelbazillus wäre, wohl nur sein Urahn in grauer Vorzeit ein echter Tuberkelbazillus gewesen ist“¹⁾. (Vgl. hierzu Anm. S. 251.)

2. Die biologischen Verwandtschaftsbeziehungen der „Säurefesten“ und Kaltblütertuberkelbazillen zu den echten Tuberkelbazillen.

Auf die wichtige Frage der biologischen Beziehungen der Tuberkelbazillen im engeren Sinne zu den übrigen säurefesten Stäbchen näher einzugehen, würde an sich schon eine umfangreiche Darstellung erfordern. Hier seien nur in Kürze die in der Literatur vorliegenden Ergebnisse biologischer Verwandtschaftsreaktionen zusammengestellt.

Als echte Tuberkelbazillen gelten unbestritten der Säugetiertuberkelbazillus mit den beiden Typen, dem humanen und bovinen.

Die Vogeltuberkelbazillen rechnet R. Koch zu den „näheren Verwandten“ der Tuberkelbazillen und spricht daneben von den sogenannten „säurefesten Bakterien“. Er macht also immerhin eine Trennung.

Piorkowski (95) trennt die Tuberkelbazillen in 3 Gruppen:

- 1) der lungenatmenden Wirbeltiere (besser wohl Säugetiere),
- 2) der Vögel,
- 3) der durch Lungen atmenden Kriechtiere (Eidechsen, Schlangen, Krokodile und Schildkröten).

1) Klopstock (64) hält die Umwandlung des Warmblütertuberkelbazillus in den Typus der Kaltblütertuberkelbazillen für möglich. Der Friedmannsche Bazillus, wenigstens der Stamm des Jahres 1903, stelle die „Brücke“ dar. Klopstock glaubt demnach an die Ansteckung der ersten Schildkröten durch den Wärter mit der offenen Tuberkulose.

Nach dem zoologischen System richtiger geordnet:

Hydrosaurier: Krokodile (ob hier schon Tuberkelbazillen nachgewiesen?), Schildkröten,

Lepidosaurier: Schlangen (Nattern, Ottern),
Echsen (Eidechse, Blindschleiche).

Hiervon sind nach Piorkowski abzutrennen die

Amphibien. Froschlurche: Kröten und Frösche,
Schwanzlurche: Salamander (Molche)

und die Fische,

welche beiden Gruppen stets oder wenigstens in der Jugend Kiemenatmer sind.

Diese Klassifizierung Piorkowskis ist als eine rein theoretische zu betrachten, denn es ist noch keineswegs entschieden, daß für jede dieser Tiergattungen bestimmte, eigenartige Typen von Tuberkelbazillen vorhanden sind.

Immerhin ist es von Interesse, daß in dieser vom Menschen in absteigender Richtung angeordneten Reihenfolge die Schildkröten den nächsten Platz neben den Vögeln einnehmen, also die Schildkrötentuberkelbazillen, wenn es einen solchen für sich abgeschlossenen umgrenzten Typus gibt, unter den sogenannten Kaltblütertuberkelbazillen den „echten“ Tuberkelbazillen noch am nächsten stehen.

Dieser Ordnung würden sich dann die übrigen saprophytischen „Säurefesten“ anschließen, die sich in der freien Natur — an Gräsern, im Moose, im Mist — an und im menschlichen Körper, in der Milch, der Butter, an Wasserhähnen (Brem), in Trompeten (Schmitz und Jacobitz) usw. finden¹⁾.

Es lag der Gedanke nahe, zur Ergründung der Verwandtschaft all dieser säurefesten Bazillen zunächst die Agglutination heranzuziehen. Leider ist, wie als erster R. Koch (66) nachgewiesen hat, durch diese Methode eine Trennung oder Abstufung nicht möglich.

Sobernheim (112) bringt dagegen Versuchsprotokolle, nach denen mit hochwertigem Tuberkuloseserum vom Pferde durch Agglutination die echten Tuberkelbazillen von den Säurefesten scharf zu trennen waren, nicht dagegen durch Bakteriotropinversuche und durch die Komplementbindung mit Tuberkulin.

1) Philibert (94) trennt diese, je nachdem sie säure- und alkoholfest oder nur säurefest sind, in *Bacilles tuberculoides* und in *Pseudobacilles acido-resistants*.

Ueber Komplementbindungsreaktionen mit Säurefesten im weitesten Sinne liegen ferner die Arbeiten von Gengou (48) und Fritzsche (45) vor. Beide kommen zum Ergebnis, daß keine scharfe Abtrennung durch diese Methode möglich sei.

Auf gewissermaßen indirektem Wege ist durch Komplementbindung eine Einordnung für einige Stämme durch Deilmann (17) erfolgt.

Er fand bei der Prüfung von 118 menschlichen Seris auf Komplementbindung folgende Prozentzahlen an positiven Ausschlägen:

Tuberkulin	84,6
Tuberkelbazillenemulsion	69,5
Lepra	33,3
Harnbazillen	31,8
Timotheebazillen	12,04
Blindschleichenbazillen	8,5

Aus den Deilmannschen Befunden ergibt sich demnach ein weiter Abstand der Vertreter der Kaltblüterbazillen von den echten Tuberkelbazillen.

Durch die Anaphylaxie ist im Widerspruche hiermit nach Krause und Baldwin (72) eine nahe biologische Beziehung der Smegma-, Timothee- und Butterbazillen zu den Säugetier- und Vogeltuberkelbazillen nachzuweisen.

Ueber spezifische Tuberkulinreaktionen von mit Friedmannbazillen infizierten Tieren ist fast nichts berichtet.

Nur Kruse (73) teilt mit, daß mit diesen Bazillen geimpfte Tiere keine Tuberkulinreaktion gaben. Friedmann (35) beobachtete in der ersten Zeit nach der Injektion bei den schutzgeimpften Säuglingen positive Pirquetsche Reaktion. Kraus und Volk (71) stellten an Meer-schweinchen, die mit anderen Säurefesten (Pseudoperlsucht Courmont, Smegma-, Milch- und Timotheebazillen) intrakutan infiziert waren, fest, daß sie sich gegenüber der Intrakutanreaktion mit 0,02 Alttuberkulin ebenso negativ, wie gesunde Tiere verhielten, und ebenso gegen intrakutane Einspritzung von 0,01 g der verschiedenen benutzten Säurefesten.

(Ueber unsere Beobachtungen mit Friedmantuberkulin s. p. 313 ff.)

Es mögen die Angaben über das gegenseitige immunisatorische Verhalten folgen.

Klemperer (59) fand einen abschwächenden und hemmenden Einfluß der Gras- und Milchbazillen Moellers und der Butterbazillen auf

die nachfolgende Tuberkuloseinfektion. Er schließt daraus auf einen „phylogenetischen Zusammenhang“ zwischen Tuberkelbazillen und Säurefesten, ja, er geht so weit, zu dem „theoretischen Schluß“ zu kommen, „daß Tuberkelbazillen und säurefeste Bakterien verwandter, ja gleicher Art, mit anderen Worten, daß die Tuberkelbazillen parasitär gewordene Saprophyten sind“¹⁾.

Aus der eben erwähnten Klempererschen Abhandlung seien hier noch folgende für unser Thema belangreiche Sätze mitgeteilt: „Die charakteristischen Merkmale der säurefesten Bakterien und ihre wesentlichen Unterscheidungsmerkmale gegenüber den Tuberkelbazillen bilden ihr schnelleres Wachstum und ihre geringeren Temperatursprüche (sie vermehren sich bei Zimmertemperatur und bereits in 24—48 Stunden), sowie ihr Mangel an spezifischer Pathogenität.“ „Die Virulenz der Säurefesten ist eine geringe, läßt sich durch häufige Tierpassage unverkennbar steigern, wobei gleichzeitig das Wachstum ein langsamerer wird und das Aussehen der Kultur dem der Tuberkelbazillen sich deutlich nähert, ineinander überführen aber lassen sie sich nicht.“

Auch nach Moeller blieben die Säurefesten und Kaltblütertuberkelbazillen ihrer typischen Eigenschaft nach getrennte Arten.

Koch, Schütz, Neufeld und Mießner (67) berichten gelegentlich, daß sie bei zahlreichen Immunisierungsversuchen an Meerschweinchen mit lebenden Timothee-, Mist-, Pseudoperlsucht- und Blindschleichen-tuberkulosebazillen häufig eine Resistenzerhöhung (verzögertes Auftreten der ersten Infektionsercheinungen, langsamerer Verlauf der Erkrankung, geringere Drüsenveränderungen) feststellten, doch wurden alle Tiere schließlich tuberkulös.

Die weiteren bis Juli 1907 bekannt gewordenen Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose mit Kaltblütertuberkelbazillen und säurefesten, tuberkelbazillenähnlichen Bakterien sind von L. Rabinowitsch (97) in einem geschichtlichen Ueberblick zusammengestellt, auf den, da von unserem Thema zu weit abliegend (s. p. 232), hiermit verwiesen sei.

Doch sei hervorgehoben, daß die Klempererschen Versuche eben in der Absicht unternommen wurden, die verwandtschaftlichen Beziehungen der „Säurefesten“ und Kaltblütertuberkelbazillen zu den Säugetiertuberkelbazillen zu beleuchten.

Von späteren Versuchen wären noch die schon erwähnten von Weber und Titze (123) und von Klimmer (63) anzuführen.

1) Bei diesem phylogenetischen Zusammenhang sind also die „Kaltblütertuberkelbazillen“ zeitlich vor den „menschlichen“ Tuberkelbazillen aufgetreten. Nicht der „echte“ Tuberkelbazillus kann ein „Urahn“ des Friedmannbazillus gewesen sein (vgl. p. 248), sondern umgekehrt könnte man die Kaltblütertuberkelbazillen als Urahnen der echten Tuberkelbazillen bezeichnen. Schließlich waren eben alle „Pathogenen“ in „grauer Vorzeit“ oder vor Tausenden von Jahren einmal Saprophyten.

In einzelnen Fällen ließ sich also eine geringe Erhöhung der Widerstandskraft gegen die nachfolgende Infektion feststellen, doch erlauben die Versuche im ganzen genommen keine irgendwie bestimmte Einordnung nach dem Grade der gegenseitigen immunisatorischen Beziehungen.

3. Das Verhalten der Friedmannbazillen im Meerschweinchen.

a) Der I. Stamm.

Bei der Auffassung, zu der wir über die Art auch des 1. Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillenstammes gekommen sind, dürfte es angezeigt sein, hier zunächst auch auf das Verhalten dieses Stammes gegenüber Meerschweinchen einzugehen.

Friedmann berichtet in seiner ersten ausführlichen Mitteilung (27) über diesen Stamm über Versuche an 11 Meerschweinchen, „nicht erschöpfend“, wie er angibt, da seine Meerschweinchen zum großen Teil noch lebten und vorläufig nicht getötet, sondern zu weiteren Versuchen (wohl über Immunität) verwendet werden sollten.

Von den mitgeteilten 11 Fällen wurden 9 intraperitoneal geimpft. 3 „mit enorm großen Dosen“ injizierte Tiere gingen akut in 4–8 Tagen ein und zeigten „häufig fibrinöse Massen im Peritonealraum, speziell im Netz, wo sich auch schon beginnende Knötchenbildung bemerkbar macht“.

2 ebenfalls mit sehr großen Dosen geimpfte Tiere wurden nach 29 bzw. 30 Tagen getötet. Es hatten sich „lokal“ (also bei intraperitonealer Infektion in Netz und Leber) „echte, mit bazillenhaltigen Riesenzellen versehene Tuberkel“ gebildet, die aber „durch ihre bindegewebige Abkapselung die Tendenz zur Heilung und Nichtgeneralisierung im Körper beweisen“.

Von 3 weiteren mit etwa $\frac{1}{10}$ – $\frac{1}{12}$ Agar- bzw. Gelatinebelag intraperitoneal geimpften Tieren starb eines nach 32 Tagen interkurrent an einem, auch unter nicht geimpften Tieren grassierenden Darmkatarrh, während die beiden anderen nach 46 und 65 Tagen getötet wurden. Bei 2 von diesen Tieren fanden sich nach Friedmann „harmlose, abgekapselte und im Verschwinden begriffene Residuen der alten Infektion, außerhalb der abgegrenzten Herde nicht ein „Bazillus“, bei dem dritten, nach 65 Tagen getöteten, war keine Spur einer Erkrankung mehr festzustellen.

Ebenfalls völlig frei von krankhaften Veränderungen war ein nach 65 Tagen getötetes Tier, das mit einem Lungenknötchen der Ausgangsschildkröte II intraperitoneal geimpft worden war.

Um zu zeigen, daß sich bei Tieren, die etwas länger als die nach „enormen“ Dosen so rasch eingegangenen Tiere (s. oben) am Leben blieben,

echte Tuberkelbildung findet, wird ein einer späteren Versuchsreihe angehörendes Protokoll mitgeteilt.

Es handelt sich um ein 595 g schweres Meerschweinchen, welches mit der unseres Erachtens ebenfalls übergroßen Dosis von 0,3 g, also 300 mg Reinkultur intravenös injiziert, nach einem anfänglichen leichten Fieber und darauffolgendem ständigen Temperaturabfall am 12. Tage, auf 380 g abgemagert, zugrunde ging. Alle inneren Organe enthielten reichliche Häufchen meist zu Körnchen zerfallener Schildkrötentuberkelbazillen. In der Lunge waren aber auch bereits zahlreiche, aus Riesenzellen, Epitheloiden und polynukleären Leukozyten bestehende Tuberkel vorhanden, die große Mengen von Schildkrötentuberkelbazillen enthielten.

Schließlich wurde am 8. III. 1903 auch noch ein Meerschweinchen (Fall 50) mit Gelatinereinkultur intrapulmonal (!) geimpft.

Man sieht deutlich, Friedmann hat es bei seiner ersten Versuchsreihe vermißt, daß bei keinem von allen seinen Meerschweinchen in der Lunge auch nur die geringsten tuberkuloseartigen Veränderungen vorgefunden wurden, und nahm deshalb diese ungewöhnliche, „drastische“ Art der unmittelbaren Kultureinspritzung in die Lunge vor. Und was war das Ergebnis bei der Tötung am 12. V. 1913? An der Impfstelle eine ganz umschriebene, adhäsive Pleuritis und ein einziges durch die Pleura hindurchscheinendes rundes grauweißes Lungenknötchen!

Ueber den mikroskopischen Befund wird mitgeteilt:

Der Lungentuberkel, der einzelne degenerierte Tuberkelbazillen enthält, hat genau dieselbe Struktur wie die bei der intraperitonealen Impfung mit Schildkrötentuberkelbazillen erzeugten Lebertuberkel. Er ist rings von derbem Bindegewebe umschlossen. Die Bronchialdrüsen sind entzündlich infiltriert, mit purulenter Erweichung.

Bezüglich der bei den Meerschweinchen überhaupt gefundenen Knötchen gibt Friedmann an, daß

sie sich durch ihre rundliche Form und ihre weiße, etwas glänzende Färbung von den durch menschliche Tuberkelbazillen hervorgerufenen mehr gelblichen (? d. Verf.) unregelmäßigen fleckigen Knötchen unterscheiden. Die weißliche Farbe sei durch den größeren Gehalt an polynukleären Leukozyten, der sich neben bazillenhaltigen Riesenzellen und Epitheloiden findet, bedingt.

Friedmann schließt aus diesen Meerschweinchenversuchen, daß der Schildkrötentuberkelbazillus den Bazillen der Menschen- und Rindertuberkulose viel näher stehe, als den Bazillen der Fisch-, Blindschleichen-, Frosch- und selbst der Vogeltuberkulose. Im Gegensatz zu diesen besitze er die Fähigkeit, „im Körper des

empfindlichen Säugetieres, speziell im Meerschweinchenkörper, in allen Fällen echte, riesenzellen- und bazillenhaltige Tuberkel zu erzeugen, die von den durch Säugetiertuberkelbazillen hervorgerufenen oft nicht zu unterscheiden sind.“

Friedmann vergleicht das Verhalten des Schildkrötentuberkelbazillus mit dem humaner Bazillen im Körper des Rindes, wobei er betont, daß im Körper des Meerschweinchens nach Einverleibung nicht allzu großer Dosen ein zwar spezifisch tuberkulöser, aber regelmäßig lokalisiert bleibender und in Heilung übergehender Herd entsteht.

Die ganze Darstellung Friedmanns macht, wie man im Einklang mit Weber und Taute (122; siehe p. 117) wohl sagen darf, einen etwas gekünstelten Eindruck. Was haben wir denn an den Versuchen vor uns? Wir sehen, daß die Schildkrötentuberkelbazillen in enormen Dosen toxisch wirken, eine Erscheinung, die sie mit vielen sonst ganz harmlosen Bakterien teilen. Daß die Erkrankung in gewisser Hinsicht „lokal“ bleibt, es also nicht zu fortschreitenden Prozessen kommt, ist meines Erachtens eben ein Beweis, daß es sich um eine von den echten Tuberkelbazillen ziemlich entfernt stehende Art handelt. Durch die Fähigkeit der Schildkrötentuberkelbazillen, bei 37° zu wachsen, wird ihre anfängliche Vermehrung im Warmblüter erklärt.

Die entstandenen Knötchen sind am ungezwungensten als Fremdkörpertuberkel aufzufassen, für welche ja durch die Untersuchungen von Lubarsch, Mayer u. a. nachgewiesen ist, daß sie auch Riesenzellen enthalten können. Von den Fremdkörpertuberkeln zu den u. U. durch verschiedene Arten von Säurefesten, auch saprophytischen, hervorgerufenen Knötchen bestehen nur allmähliche Uebergänge.

Nach Philibert (94) sind alle tuberkelbazillenähnlichen Stäbchen für Meerschweinchen „pathogen“. Sie erzeugen bei subkutaner Verimpfung einen örtlichen käsigen Abszeß, bei intraperitonealer Impfung in starker Dosis fibrinös-käsige Verwachsungen an Magen, Milz und Leber und ausnahmsweise zerstreute Knötchen.

Weber (120) verimpfte 4 verschiedene Butterbazillen, ferner den Timothee-, Mist- und Grasbazillus XI, sowie den Blindschleimentuberkelbazillus Moellers subkutan und intraperitoneal (2 Oesen frischer Agarkultur) auf Meerschweinchen. Bei den subkutan geimpften Tieren treten an der Impfstelle Abszesse auf, die bald durchbrachen. Drüsenschwellungen stellten sich ein und gingen wieder zurück. Bei der Tötung, 4 Wochen nach der Impfung, fanden sich bei der Mehrzahl der Tiere in der Leber

vereinzelte kleine und kleinste gelbliche Herde, in denen mikroskopisch säurefeste Stäbchen nachgewiesen waren.

Sehr zahlreiche derartige Herde wurden bei einem mit dem *Mistbazillus* intraperitoneal geimpften Tiere gesehen. Ferner fanden sich bei einigen der intraperitoneal geimpften Meerschweinchen auf der Darmserosa und dem Netze vereinzelte kleine gelbliche, runde Knötchen, die die eingepfunden Stäbchen in großer Menge enthielten.

Auch Klemperer (59) beobachtete bei seinen erwähnten Immunisierungsversuchen bei den vielen vor Ablauf des Versuchs gestorbenen Tieren Knötchenbildung.

Bei den Schildkrötentuberkelbazillen mag diese Knötchenbildung quantitativ stärker gewesen sein, qualitativ ist der Prozeß jedenfalls ein äußerst ähnlicher, wenn nicht identischer.

Fritzsche (45) berichtet, daß die intraperitoneale Injektion lebender Blindschleimentuberkelbazillen (1 Agaroberfläche) bei einem seiner Meerschweinchen eine typische tuberkulöse Erkrankung hervorgerufen habe; strangförmige Retraktion und Verkäsung des großen Netzes und Verkäsung der Iliacaldrüsen.

Man darf also Weber und Taute zustimmen, wenn sie p. 117 bezüglich des ersten Friedmannstammes schreiben: „Sein Verhalten Warmblütern, speziell Meerschweinchen gegenüber hat nichts Besonderes und Wunderbares, wie es nach Friedmanns Darstellung erscheinen könnte. Die Fähigkeit, echte Tuberkel zu bilden, ist eine Eigenschaft, die nach den Untersuchungen von Mayer, Lubarsch u. a. unter Umständen allen säurefesten Stäbchen, den verschiedenen Stämmen allerdings in verschiedenen Graden zukommt.

Es ist nachträglich bedauerlich, daß Friedmann bei seinem ersten Stamm keine subkutanen Impfungen mit dem frisch gewonnenen Stamm und keine Weiterimpfung der „tuberkulös veränderten“ Organe auf Meerschweinchen vorgenommen zu haben scheint.

Vergleicht man nämlich die Befunde, die er mit seinem frisch herausgezüchteten III. Stamm an Meerschweinchen erhoben hat (43), so findet man nur wenige Unterschiede.

Unter den Protokollen finden sich 2 Tiere, „Gelbes Meerschweinchen“ und „Weißes Meerschweinchen“ p. 1413, die 1,0 bzw. 1,5 ccm Kultur-emulsion intraperitoneal erhalten hatten.

Die Tiere wurden nach 78 bzw. 79 Tagen getötet. Das eine wies auf dem Netz gelbliche, scharf umschriebene Knötchen auf (mikroskopisch: epitheloide und polynukleäre Leukocyten, im Zentrum beginnende Ver-

käsung, Zelldetritus, ganz vereinzelte Bazillen), außerdem einige Adhäsionen der im übrigen völlig normalen Leber und Milz, das andere als einzigen Befund einige weiße Flecken auf der Oberfläche der Leber.

Diesen beiden Tieren ist das auf p. 252 unten erwähnte, nach 65 Tagen getötete Tier der Versuchsreihe mit Stamm I, bei dem „makroskopisch und mikroskopisch alle Organe normal, keine Tuberkelbazillen gefunden“ angegeben ist, an die Seite zu stellen (Friedmann, 27; Fall 48, p. 799). Bei dem zweiten hierher gehörigen Tier aus der 1. Versuchsreihe mit dem I. Stamm (Fall 47) ist zu beachten, daß es bereits nach 44 Tagen, also um mehr als einen Monat früher getötet wurde, wodurch sich die stärkeren pathologischen Erscheinungen (in der Leber 2 ganz kleine weiße Knötchen, im Netz, einige sehr kleine weißgraue Knötchen und ein harter, kleinerbsengroßer, gelbgrauer Knoten, offenbar in Heilung und im Verschwinden begriffene Residuen der tuberkulösen Infektion“) erklären.

Friedmann hat die Tiere „des frischen III. Stammes“ nach 72—179 Tagen getötet bis auf 2 Ausnahmen, die nach 38—53 Tagen getötet wurden. — Da diese Meerschweinchen subkutan geimpft waren, lassen sie keinen Vergleich zu.

Lägen über den I. Stamm Ergebnisse der subkutanen Verimpfung vor und wären mit dem frischen III. Stamm die intraperitonealen Infektionen mit den gleichen sehr großen Dosen wie bei Stamm I gemacht worden, oder die Tiere in ebenso kurzer Zeit nach der gleich starken intraperitonealen Infektion getötet worden, so würden vermutlich noch mehr Uebereinstimmungen festzustellen gewesen sein.

Jedenfalls paßt die auf p. 1414 (43) gegebene Definition der Avirulenz des III. Stammes

„Der Bazillus ist im Meerschweinchen keine fortschreitende Infektion zu erzeugen imstande und er hält sich in demselben nicht dauernd am Leben. Es kommt vielmehr nur zu einer vorübergehenden, regelmäßig abortiv verlaufenden Knötchenbildung; später gehen Knötchen und Erreger zugrunde“

bis zu einem hohen Grade auch für den I. Stamm, soweit wenigstens Friedmanns Angaben in der betreffenden Veröffentlichung über den I. Stamm (27) lauten.

Friedmann spricht denn auch im Jahre 1914 in der wichtigsten Abhandlung über sein Mittel (27) vom I. Stamm folgendermaßen:

„Wenn dieser Stamm also auch fast avirulent¹⁾ war und wenn auch die Knötchen im Meerschweinchenkörper nie zur Tuberkulose führten,

1) Vom Verf. gesperrt.

so waren doch diese Bazillen noch nach Jahren im Körper dieser Versuchstiere nachweisbar“. (Wohl der Orthsche Befund. Verf.)

Außer Friedmann hatten nur Libbertz und Ruppel (76) den I. Stamm zu Tierversuchen in Händen. Diese Forscher konnten die von Friedmann für ihn angegebene „absolute und sicher bewiesene Unschädlichkeit gegenüber allen untersuchten Säugetieren“ (30) nicht bestätigen. Der erste aus ihren Beobachtungen gezogene Schlußsatz lautet:

„Die Friedmannsche Kultur ist für Warmblüter nicht absolut ungefährlich. Sie erzeugt zwar keine Tuberkulose, sie kann aber Intoxikationen, und organische Veränderungen hervorrufen, welche Gesundheit und Leben der Versuchstiere zu gefährden imstande sind.“

Orth (93) hatte zwar den Stamm selbst nicht zur Verfügung, machte aber an einem von Friedmann mit dem I. Stamm vorbehandelten und ihm zur Nachinfektion übergebenen Meerschweinchen eine Beobachtung, die seither in der ganzen Frage der Gefährlichkeit des Friedmannschen Heilmittels eine grundlegende Bedeutung gewonnen hat und immer wieder zitiert wird¹⁾.

Bei dieser Wichtigkeit sei hier etwas näher darauf eingegangen.

Meerschweinchen No. 7, ein altes, schweres männliches Tier von 750 g Gewicht machte, als es Orth übergeben wurde, einen kranken Eindruck, und wurde deshalb nicht in die erste Versuchsreihe vom 30. VI. 1905, für die es bestimmt war, aufgenommen. Es erholte sich wieder und zeigte bis zum Ende November 1905 Gewichtsschwankungen zwischen 730 und 810 g. Am 12. XII. 1906, also 1 Jahr und 12 Tage nach der Infektion seiner Genossen und also noch etwas länger nach seiner Vorbehandlung, wurde es bei einem Körpergewicht von 850 g getötet. Aus dem eingehenden Sektionsprotokoll sei hier auszugsweise mitgeteilt: In den Lungen einzelne graue und graurötliche knötchenartige Bildungen. Die nicht vergrößerte Milz in der Nähe des vorderen Randes auf der konvexen Seite in 1—1½ cm Ausdehnung mit der Bauchwand verwachsen. Im Milzgewebe dicht neben dieser Stelle ein grauer, mohnkorngroßer Fleck, anscheinend von einem Knötchen herrührend. In der Leber vereinzelte ähnliche Flecken wie in der Milz. Peritoneum und Netz o. B., jedoch über beiden Hoden eine

1) Merkwürdiger- und unseres Erachtens nicht ganz gerechtfertigterweise wird sie auch immer bei der Bewertung des III. Stammes, mit dem sie doch unmittelbar gar nichts zu tun hat, herangezogen, ohne daß der genaue Sachverhalt angegeben wird.

Gruppe von teils isolierten teils zusammenhängenden, flachen, in der Peripherie grau, im Zentrum gelb aussehenden, tuberkuloseähnlichen Herden. Auf dem Durchschnitt das gelbe Zentrum vielfach erweicht; die Herde reichen in die Hodensubstanz hinein. Die kleinsten Herde am serösen Ueberzug des dicken Fettgewebes, das sich an den (sic!) Hoden anschließt. In 2 Ausstrichpräparaten des rechten Hodens keine säurefesten Stäbchen. Alle Kulturen aus dem linken Hoden bleiben steril.

Die mikroskopische Untersuchung der Hodenherde ergab tuberkulöses Granulationsgewebe mit Langhansschen Riesenzellen, fleckweiser zentraler Verkäsung, hauptsächlich epitheloide, am Rande auch lymphoide Zellen. Daneben fielen mit lymphoiden Zellen prall angefüllte Lymphgefäße auf. Bazillen wurden nicht gefunden.

Kleine Stückchen der verdächtigen Stellen des linken Hodens wurden 2 Meerschweinchen (7a [360 g] und 7b [500 g]) unter die Haut verbracht. Beide Tiere blieben gesund und hatten bei der Tötung nach 296 Tagen (am 4. V. 1901) erheblich an Gewicht zugenommen (auf 700 bzw. 800 g).

Bei Meerschweinchen 7a beim Einschneiden in der rechten Inguinalgegend an Stelle der Drüsen mehrere mit dünner eiterähnlicher Masse gefüllte Hohlräume. In einer Leistendrüse der linken Seite eine harte, graue, hanfkorngroße Einsprengung mit rundlichen knötchenartigen Vorsprüngen am Rande. Ähnliches findet sich in den Drüsen am Beckeneingang. Mit Ausnahme der linken Niere, an deren Oberfläche man zwei nebeneinanderliegende, tuberkelähnliche Herdchen sieht, weder an sonstigen Lymphdrüsen noch an anderen Organen etwas Tuberkulöses zu bemerken. Mikroskopisch zeigten 4 untersuchte Lymphdrüsen typische Tuberkulose mit vereinzelt, zum Teil in Riesenzellen gelegenen Bazillen; auch die Nierenherdchen erwiesen sich als riesenzellenhaltige Tuberkel, hier aber Bazillenbefund negativ.

In der Infektionsstelle (rechte Inguinalgegend? Verf.) einige Tuberkelbazillen; alle im Brutschrank und bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturröhrchen blieben steril, bis auf je 1 Röhrchen, in welchen man einzelne oder zu spärlichen kleinen Häufchen vereinigte säurefeste Bazillen feststellen konnte, deren Menge nach dem Befund am Ausgangsmaterial nur auf Vermehrung der ausgesäten bezogen werden konnte.

Befund bei Meerschweinchen 7b: Rechte Leistendrüsen vergrößert, auf dem Durchschnitt teils derbe, aus zentral verkästen Knötchen zusammengesetzte Massen, teils ein mit eiterähnlicher Masse gefüllter Hohlraum wie bei 7a. In der linken Inguinalgegend eine etwas vergrößerte und verhärtete Lymphdrüse. Am Beckeneingang rechts eine erheblich vergrößerte, harte Lymphdrüse ähnlich wie bei 7a. In der Lunge einige feine graue Fleckchen, in der Leber ein gelbliches Herdchen von etwa 1 mm Durchmesser. Dieses wird mikroskopisch als nicht tuberkulöser Natur erwiesen, dagegen in Lymphdrüsen Schnitten große Mengen typischer, riesenzellenhaltiger Tuberkel, in denen sich in einzelnen Schnitten mehrere, teilweise in Riesenzellen eingeschlossene säurefeste Bazillen fanden. Im Ausstrichpräparat aus den käsigen Massen der Inguinaldrüsen vereinzelt Tuberkelbazillen. Alle Kulturen blieben steril.

Wie schon erwähnt, rechnet Orth auf Grund dieser Befunde den Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillus zu den Tuberkelbazillen; er besitze aber für Meerschweinchen nur eine sehr geringe Virulenz, wenn er sich auch über Jahr und Tag im Meerschweinchenkörper lebend erhalte.

An den Orthschen Befunden fällt einiges auf. Erstens, daß sich bei Meerschweinchen No. 7 mikroskopisch in den tuberkulösen Herden keine säurefesten Stäbchen gefunden haben. Für Tuberkelbazillen ist ein derartiger negativer Befund nichts Außergewöhnliches, namentlich in den enorm vergrößerten Lebern und Milzen von längere Zeit nach der Infektion gestorbenen Meerschweinchen. Für tuberkelbazillenähnliche Stäbchen aber stellte Weber (119) fest, daß sie im Tierkörper bis zu 4 Monaten lebensfähig blieben, danach aber noch lange Zeit, nachdem sie ihre Lebensfähigkeit eingebüßt hatten, ihre färbenden Eigenschaften beibehielten; in einem Falle konnten sie noch 1¼ Jahre nach der Impfung mikroskopisch nachgewiesen werden¹⁾.

Zweitens überrascht es, daß bei der Weiterimpfung dieses mikroskopischen bazillenfreien Materials in den beiden Tieren 7a und 7b doch wieder säurefeste Stäbchen in die Erscheinung treten, ein Vorgang, wie er bisher nur für die echten Tuberkelbazillen bekannt ist. Und trotz dieses Wiederauftauchens der Stäbchen keine weitere Verbreitung im Körper bis über die nächsten Lymphdrüsen hinaus!

Drittens stellen die bei Meerschweinchen 7a gefundenen 2 kleinen Nierentuberkel (allerdings ebenfalls ohne positiven Bazillennachweis) einen äußerst seltenen Befund dar. Bei den weit über 1000 Meerschweinchenobduktionen, über die ich selbst verfüge und nach Erkundigungen auch bei etwa 10 000 Obduktionen, die im Gesundheitsamt im Laufe der Jahre bei den ausgedehnten Tuberkuloseuntersuchungen vorgenommen worden sind, wurde nicht in einem einzigen Falle an der Meerschweincheniere etwas Derartiges gesehen²⁾.

1) Andererseits weist Weber an der gleichen Stelle gerade auf die fast unbegrenzte Erhaltung der Färbbarkeit echter Tuberkelbazillen hin, wofür er den Befund von Hierocles (53), der Tuberkelbazillen in einem vor 6 Jahren ausgehusteten Lungensteine färben konnte, heranzieht.

2) Erst in allerjüngster Zeit fand ich bei einem Meerschweinchen in

Würde also der Umstand, daß sich in den Tieren 7a und 7b wieder säurefeste Stäbchen fanden, für Verwandtschaft mit den echten Tuberkelbazillen sprechen, so stimmen die Nierenherde weniger mit einer solchen Annahme überein. Und aus dem Züchtungsversuch mit dem Eiter der Impfstelle von Meerschweinchen 7a, wobei außer in einem bei 37° gehaltenen, auch in einem bei Zimmertemperatur aufbewahrten Röhrchen eine allerdings nur mikroskopische Vermehrung festgestellt wurde, läßt sich ebenfalls kein sicherer Schluß hinsichtlich der Zuteilung der Bazillen ziehen. Es wäre immerhin möglich, daß auch echte Tuberkelbazillen bei der u. U. anfangs Mai herrschenden Temperatur wenigstens eine mikroskopische Vermehrung zeigen.

Alles in allem genommen sind die Orthschen Befunde als ganz außergewöhnliche zu bezeichnen, wie sie m. W. bei Tuberkuloseuntersuchungen sonst nie erhoben wurden. Die nächstliegende Erklärung ist denn auch die von Orth gegebene, daß ein fast avirulenter echter Tuberkelbazillus vorliegt, wie solche Stämme von stärkst herabgesetzter Virulenz bei Lupus und Hauttuberkulose gefunden wurden (engl. Kommission, auch unsere noch nicht veröffentlichten Lupusbefunde).

Da erhebt sich aber ein Verdacht, dessen Aeüßerung wir nicht unterdrücken zu sollen glauben:

Wir wissen nicht, womit Friedmann die betreffenden Tiere vorbehandelt hat.

In seiner Patentanmeldung¹⁾ wird auch von der Verwendung von Mischkulturen avirulenter und virulenter Tuberkelbazillen gesprochen (85). Sollte eine solche oder Abimpflinge von solchen mit im Spiele gewesen sein? Sollten die an Zahl geringen und an Virulenz geschwächten Tuberkel-

der linken Niere ein einziges wandständiges miliäres Knötchen in der Rinde, dessen mikroskopische Untersuchung noch aussteht. Da es sich makroskopisch um ein nicht ganz bestimmt zu deutendes Gebilde handelt, schien mir die mikroskopische Verarbeitung den Vorzug vor der Verimpfung auf ein Tier zu verdienen.

1) Anm. bei der Korrektur: DRP. 336051 inzwischen erteilt, siehe Patentanspruch 3.

bazillen gerade am Hoden des alten Meerschweinchenbockes No. 7 einen *Locus minoris resistentiae* gefunden haben? Die Verwachsungen der Milz deuten darauf hin, daß entweder Friedmann die Schutzimpfung intraperitoneal vorgenommen hat, oder daß eine wieder ausgeheilte Seuche vorlag.

Wir neigen also trotz der Orthschen Befunde dazu, auch den ersten Friedmannschen Stamm für einen „genuinen“ Kaltblütertuberkelbazillus zu halten, der zu den echten Säugetiertuberkelbazillen nur ganz entfernte phylogenetische Beziehungen hat.

b) Der II. Stamm.

Ueber den II. Stamm (s. p. 244) können wir ganz kurz hinweggehen. Er steht schon durch seine kulturellen Eigenschaften, vor allem die Temperaturbreite, den typischen Kaltblüterorganismen äußerst nahe. Angaben über sein Verhalten im Meerschweinchenkörper — von solchen über die Ungeeignetheit zu Immunisierungszwecken abgesehen — liegen nicht vor.

c) Der III. Stamm.

Wenn wir nunmehr zum III. Stamm, dem für uns wichtigsten, übergehen, so darf zunächst auf das schon oben (p. 256) bei dem Vergleiche mit dem I. Stamm über ihn Gesagte verwiesen werden.

Die durch zahlreiche Protokolle belegten Friedmannschen Angaben über sein Verhalten im Meerschweinchenkörper lassen sich dahin zusammenfassen, daß er schon im frisch-gewonnenen Zustande als fast avirulent, nach seiner langen künstlichen Weiterzüchtung als völlig avirulent für diese Tiere bezeichnet wird.

Im folgenden sollen die bisher vorliegenden Befunde der anderen Forscher kurz zusammengestellt werden.

Von verschiedenen Seiten wurde behauptet oder wenigstens die Vermutung ausgesprochen, die „Kultur“ und das „Mittel“ seien nicht identisch [Rabinowitsch (97), Meinicke (80) „nicht oder nicht mehr identisch“].

Rabinowitsch (101) teilt mit, russische Aerzte vermuteten, daß die Verunreinigungen absichtlich zugesetzt (!) seien.

Amerikanische Aerzte glaubten, daß absichtlich zwei verschiedene Bakterienarten im Impfstoff seien (99)¹⁾. Auch hörte ich noch im April 1914 von anderer Seite die Vermutung ausgesprochen, daß Friedmann „verschiedene Stämme abgebe und immer noch mit neuen Kulturen arbeite“.

Wenn auch Friedmann immer wieder mit aller Bestimmtheit versichert, daß Kultur und Mittel absolut identisch seien, woran auch in keiner Weise zu zweifeln ist, so mögen die folgenden Literaturangaben doch nach „Kultur“ und „Mittel“ getrennt aufgeführt werden²⁾.

d) Die „Kultur“.

Angaben über die „Kultur“ finden sich bei Rabinowitsch (100), Baumann (7), Meinicke (80), Kruse (73), Ehrlich-Böhnke (22) und Schröder (107).

Rabinowitsch (100) verimpfte von ihr selbst aus dem Mittel herausgezüchtete Kulturen (über die „Barnes-Kultur“ siehe weiter unten) in Mengen von 0,5–2 mg subkutan oder intraperitoneal auf Meerschweinchen. Ein Teil der Tiere blieb ohne krankhafte Erscheinungen, bei einem anderen Teile fanden sich bei der nach mehreren Monaten vorgenommenen Sektion (teilweise spontan verendet) vereinzelt, mehr oder weniger tuberkuloseverdächtige Herde in den vergrößerten Drüsen, in Leber und Milz, aus denen die Herauszüchtung säurefester Stäbchen gelang. Die Weiterimpfung der Herde auf Meerschweinchen verlief erfolglos.

Von einer im November 1913 angesetzten Reihe von 4 Meerschweinchen, die alle mit verschiedenen Mengen einer 6-tägigen, aus einer Ampulle 2 gewonnenen Reinkultur subkutan geimpft worden waren, verendete das mit 2 mg gespritzte Tier nach 3 Monaten. Neben einem hirsekorngroßen Knötchen an der Impfstelle und Vergrößerung und Verkäsung der Leisten-drüsen ist vor allem der Milz- und Leberbefund auffallend. Die wenig vergrößerte Milz ist völlig durchsetzt von stecknadelkopfgroßen graugelben Knötchen; die Leber enthält zahlreiche hirsekorn- bis stecknadelkopfgroße Knötchen.

Die histologische Untersuchung (Dr. Ceelen) ergab an der Impfstelle, in Leber und Milz tuberkulöse Veränderungen. In der Leber vereinzelt Langhanssche Riesenzellen. An der Impfstelle und in der Leber zahlreiche säurefeste Stäbchen. Kulturen aus Impfstelle und den Organen verliefen positiv. Etwas verlangsamtes Wachstum, doch auch bei Zimmer-

1) Karfunkel (37) äußerte sich sogar dahin (p. 1180), daß es sich bei Friedmann gar nicht um einen säurefesten Bazillus handle, sondern um einen nicht säurefesten Sporenbildner (!).

2) Es wäre von vornherein nicht ganz auszuschließen, daß die „Virulenz“ der Bazillen durch den auch nur einige Tage währenden Aufenthalt in der Kochsalzlösung irgendwie beeinflußt würde.

temperatur nach 10 Tagen deutliche Vermehrung. Die Weiterimpfung auf Meerschweinchen war noch nicht abgeschlossen.

Man wird aber annehmen dürfen, daß bei diesen zweiten Passagen keine tuberkulöse Erkrankung der Tiere auftrat, weil andernfalls die Veröffentlichung dieser bedeutungsvollen Befunde wohl sicherlich nicht unterlassen worden wäre.

Friedmann (41) führt diese Ergebnisse auf Fremdkörpertuberkulose zurück und legt auf das Versagen der Weiterimpfungen größten Wert.

Piorkowski (95) teilt mit, daß Meerschweinchen selbst Dosen von 100 und 300 mg Schildkrötentuberkelbazillen (um welchen Stamm es sich handelt, geht nicht klar hervor, wohl um den I. Friedmannstamm) reaktionslos vertrugen. Die anfangs entstandenen hirsekorn- bis etwa erbsengroßen Knötchen (wohl an der Impfstelle? Verf.) verschwanden nach 3—4 Wochen wieder völlig. Organe stets frei von tuberkulösen Veränderungen.

Baumann (7) konnte bei 17 Meerschweinchen, denen er 7 Tage nach der subkutanen Infektion mit 2 mg menschlicher Tuberkelbazillen je 0,5 ccm einer leicht opaleszierenden Aufschwemmung — also wohl von der Konzentration des Mittels — intramuskulär eingespritzt hatte, bei der Sektion nach durchschnittlich 43 Tagen niemals Abszesse oder Infiltrate feststellen. Nur bei 4 Tieren war leichte Verdickung vorhanden. (Eine Herauszüchtung der Friedmannbazillen aus Blut oder Impfdrüsen gelang zu diesem Zeitpunkt bei keinem der Tiere.)

Kruse (73) fand bei Meerschweinchen, die mit Mengen bis zu 60 mg infiziert waren, bei der Sektion nach 3—6 Monaten keine Spuren von tuberkuloseartigen oder sonstigen Veränderungen. Die Tiere hatten auch stets negative Intrakutanreaktion nach Römer gegeben. Die von anderen gelegentlich gefundenen Herde bei zu früh getöteten Tieren seien harmlose Fremdkörpertuberkel, da eine Weiterübertragung nie gelingt. Eine ihm zur Verfügung gestellte, aus solchen Herden nach Monaten herausgezüchtete Kultur verhielt sich genau, wie die ihm vor 1¼ Jahren übergebene, zur Herstellung des Mittels ausschließlich verwendete Originalkultur Friedmanns, woraus Kruse schließt, daß von einer Anpassung an den Warmblüterorganismus nichts zu merken sei.

Ehrlich (22) bzw. Boehncke (vorläufiger Bericht vom 4. VIII. 1913) berichten über zahlreiche Meerschweinchenimpfungen.

Von 38 Tieren, die mit je 2,5 mg einer Originalkultur subkutan geimpft waren, gingen 4 nach 8—19 Tagen interkurrent ein. Ein nach 75 Tagen gestorbenes Tier zeigte in der rechten Lunge zahlreiche Knötchen, doch waren in Abstrichen oder Schnitten keine säurefesten Stäbchen zu finden. Ein anderes, nach 86 Tagen getötetes Tier wies am rechten unteren Lungenrand eine verkäste, kleinbohnengroße Partie und vergrößerte Bronchialdrüsen auf. Ausstriche und Kulturen waren auch hier negativ. Die übrigen 32 Tiere lebten zur Berichtszeit.

18*

Mit Weiterzüchtungen der Originalkultur bei 37° wurden 5 Meerschweinchen mit 2,5 mg intravenös geimpft. Alle lebten nach 2 Monaten noch. Ferner wurden mit der gleichen Unterkultur 5 Tiere mit je 2,5 mg intraperitoneal geimpft. Während bei 2 von diesen Tieren keine krankhaften Organveränderungen gefunden wurden und 1 bei Berichtsabgabe noch lebte, wurden bei einem nach 57 Tagen gestorbenen Tier in der Lunge diffus infiltrierte Partien, bei dem letzten, das 5 Tage nach einer 48 Tage nach der Impfung vorgenommenen Tuberkulineinspritzung (0,5 Alt-tuberkulin) gestorben war, in der Leber ein kleiner, makroskopisch wenig verdächtiger Herd gefunden. Die mikroskopische Untersuchung bei beiden Tieren war zur Zeit der Berichtsabgabe noch nicht abgeschlossen.

Schließlich wurden mit einer bei Zimmertemperatur gewachsenen Glyzerinkultur je 2 Tiere mit den Mengen von 5,0, 7,5, 10,0, 12,5 und 15,0 mg subkutan infiziert. Die beiden 15 mg-Tiere gingen am 11. bzw. 18. Tage an Pneumonie ein, alle anderen lebten am 4. VIII. 1913 (etwa 1 Monat nach der Impfung).

Im abschließenden Bericht v. 26. I. 1914 wird auf eine Kultur vom 1. VIII. 1913 näher eingegangen. Alle 18 mit 2,5 mg dieser Kultur, die auch im Wachstum von den übrigen abwich (stark abgeschwächtes Wachstum auf festen Nährboden, keine Züchtungsmöglichkeit auf Bouillon) — subkutan geimpften Tiere erkrankten unter starker Gewichtsabnahme. 8 Tiere starben zwischen dem 8. und 12. Tage, 2 weitere am 16. bzw. 18. Tage nach der Impfung unter dem Bilde schwerster Kachexie. Sektionsbefund völlig negativ. Von den verbliebenen 8 Tieren starb eines am 30. Tage an eitrigem Peritonitis, die anderen erholten sich und wiesen bei der nach 4 bzw. 5 Monaten erfolgten Schlachtung einen völlig normalen Sektionsbefund aller inneren Organe auf.

Bei 12 Tieren wurden je 25 mg einer „normalen“ Kultur zusammen mit 2 g steriler Butter intraperitoneal verimpft. Hiervon wurden 5 Tiere nach 3 Monaten getötet und zeigten Reste eitrig-fibrinöser Peritonitis und abgekapselte Abszeßherde an und in den Organen der Bauchhöhle ein Befund, wie er auch für die übrigen saprophytischen säurefesten Bakterien bekannt ist. Von Interesse ist, daß auch die nur mit steriler Butter geimpften Kontrolltiere am Netz vereinzelt miliare Knötchen mit fettartigem Inhalt aufwiesen.

Schröder (107) verimpfte, da Kruse bei intraperitonealer Verimpfung von 60 mg keine tuberkulösen Veränderungen gesehen hatte, 70 mg einer von L. Rabinowitsch aus einem Original-Impfstoffröhrchen gezüchteten Kultur intraperitoneal auf 2 Meerschweinchen. Bei der Tötung nach 72 Tagen (also 1 Monat früher als die Kruseschen „60 mg“-Tiere) fand sich bei dem einen Tier im großen Netz und in der rechten Bauchwand je ein bohnen großer verkäster Knoten, bei dem anderen nur ein kleines hartes Knötchen in der Bauchwand. Weiterimpfungen einer Kochsalzemulsion des verkästen Inhaltes der beiden Knoten vom ersten Meerschweinchen auf eine 2. Serie und von Lungenherden eines Tieres aus dieser auf 2 Tiere der 3. Serie ergaben eine zunehmende Pathogenität der Bazillen, so daß bei der 3. Reihe von Versuchstieren bereits eine sehr ausgedehnte Phthise festzustellen war. Nach

Schröders Ansicht stellt der Friedmannstamm eine Uebergangsform des Kaltblütertuberkuloseerregers zum humanen Typus dar.

Die Versuche Schröders rechtfertigen bei ihrer Wichtigkeit wohl ein genaueres kritisches Eingehen.

Der Befund von Serie I Tier 1, das nach 72 Tagen getötet worden war, läßt sich durch die große Impfdosis ungezwungen erklären. Wohin sollen auch derartige Massen von Säurefesten, die der Auflösung doch bekanntlich größere Widerstände entgegenstellen, gelangen? Die gefundenen Abszesse und Tuberkel sind als Fremdkörperabkapselungen und Fremdkörpertuberkel leicht verständlich. Die in Ausstrichpräparaten des Eiters vorhandenen zahlreichen, zum Teil körnig zerfallenen säurefesten Stäbchen geben sich durch ihre kurze Form als die Friedmannbazillen zu erkennen.

Bei dem Tier Serie II 1 von 800 g, das nach 122 Tagen getötet wurde (780 g), fallen angesichts der intraperitonealen Verimpfung von 2 ccm einer reichlich bazillenhaltigen Eiteraushwemmung die geringen Veränderungen an den Abdominalorganen auf. (Außer ziemlich reichlichem blutig-serösem Exsudat und leichter Vergrößerung der makroskopisch normalen Milz kein Befund.) Mikroskopisch wurden allerdings in Milz und Leber kleinste miliare Tuberkel festgestellt; in der Milz auch vereinzelte säurefeste Stäbchen. Ihre Form und Größe ist nicht angegeben.

Während bei dem makroskopischen Sektionsbefund von Veränderungen der Lunge nichts erwähnt ist, findet sich unter den „histologischen Befunden“ die Angabe, daß Lungenschnitte das Bild der käsigen Pneumonie darboten. Im typischen Alveolarexsudat waren zahlreiche gut gefärbte säurefeste Stäbchen vorhanden, die teilweise gekörnt waren und morphologisch durchaus dem Tuberkelbacillus humanen Typs gleichen (vom Verf. gesperrt). Sie waren also wohl deutlich länger, schlanker und leicht gebogen. Damit hätten wir auch eine morphologische Umwandlung vor uns. Der Hauptschritt zur Umwandlung wäre also bei diesem Tier (und dem Paralleltier Serie II 2) erfolgt.

Das Meerschweinchen Serie II 2 starb nach 189 Tagen, also etwas über 6 Monaten. Unter dem makroskopischen Befund ist u. a. angegeben: Peritoneum glatt, keine Drüsen. In allen Lungenlappen deutliche lobuläre bronchopneumonische Herde. Beim Durchschneiden entleert sich aus einzelnen Herden käsiger Eiter, in dem reichlich säurefeste Stäbchen¹⁾ gefunden werden. Unter den „histologischen Befunden“ wird mitgeteilt: In Schnitten einer vergrößerten Mesenterialdrüse fanden wir Tuberkelknötchen . . . In Leber und Milz waren tuberkulöse Veränderungen nicht deutlich zu erkennen, dagegen in Lungenschnitten peribronchiale und perivaskuläre miliare Tuberkelbildungen . . . An einzelnen Stellen der Schnitte sah man beginnende käsig-pneumonische Infiltration. Säurefeste Stäbchen waren nicht zu finden¹⁾.

Bei beiden Tieren der Serie II finden sich also die hauptsächlichsten Veränderungen in der Lunge, und zwar bei intraperitonealer Verimpfung.

1) Vom Verf. gesperrt.

Sollte da nicht der leise Verdacht erweckt werden, daß eine Aspirations-tuberkulose mit hineingespielt haben kann? Nach den Untersuchungen Oettingers (90) u. a. ist ja wohl bekannt, daß nach dem Uebertritt von Tuberkelbazillen in die Blutbahn — im vorliegenden Falle würden die Friedmannbazillen von der Bauchhöhle aus auf dem Lymphwege in das Blut gelangt sein — häufig die Lungen allein oder vorwiegend erkranken, und zwar liegt das nicht an einem stärkeren mechanischen Zurückhalten der Keime in den Lungengefäßen, sondern an der erhöhten Disposition des Lungengewebes, auch auf das Eindringen weniger Bazillen hin zu erkranken. Aber wir müssen gestehen, daß uns besonders jener morphologische Befund bei Tier II 1 „stutzig macht“, und ebenso die Angabe Schröders, daß Spontan-tuberkulose in seinem Meerschweinchenstall „nur äußerst selten“, also doch immerhin beobachtet worden ist.

Im Gesundheitsamt kann ich mich im Laufe mehrerer Jahre an tausenden von Meerschweinchen keines einzigen Falles von Spontan-tuberkulose entsinnen. Eine Lungenheilstätte ist eben doch in dieser Beziehung ein etwas gefährlicher Ort.

Wenn, was wir keineswegs bestimmt behaupten wollen, wirklich doch eine unbeabsichtigte Ansteckung erfolgt sein sollte, so ist sie aller Wahrscheinlichkeit nach bei den beiden Tieren (oder einem, das dann das andere angesteckt hat) der II. Serie eingetreten. Denn die Tiere der III. Serie, die mit Lungenstückchen von Tier II 2 subkutan infiziert waren, gaben den Befund einer regelrechten allgemeinen Drüsen- und Organ-tuberkulose. Jedenfalls sind die Schröderschen Befunde von allergrößter Bedeutung und fordern unbedingt zu einer Nachprüfung heraus¹⁾.

e) Das „Mittel“.

Beobachtungen bei direkter Verimpfung des „Mittels“ auf Meerschweinchen wurden von Rabinowitsch

1) Anm. bei der Korrektur: Eine solche Nachprüfung ist inzwischen von mir vorgenommen worden. Ueber das Ergebnis, auf das hier leider nicht mehr eingegangen werden kann, wird in einer besonderen Mitteilung berichtet werden. Hier sei nur erwähnt, daß zwar nicht mit der von Schröder mir gütigst überlassenen Kultur, wohl aber mit der seinerzeit von mir aus der Impfstelle des Meerschweinchens No. 14 (s. p. 300 Anm. 2) gezüchteten Kultur an einem Tier, bzw. den Weiterimpfungen von diesem, Beobachtungen erhoben wurden, die den Schröderschen Befunden völlig entsprechen. Man wird aber diese Befunde nicht im Schröderschen Sinne — Uebergangsstellung vom Kaltblütertuberkelbazillus zum humanen Typus — verwerten dürfen, sie vielmehr in der Weise auffassen müssen, wie die Feststellungen von Kolle, Schloßberger und Pfannenstiel (Deutsche med. Wochenschr., 1921, p. 457), welche Forscher außer mit Friedmann- und Froschtuberkelbazillen-Stämmen auch mit anderen, sicher saprophytischen „Säurefesten“ ganz entsprechende Veränderungen erzielen konnten. Bezüglich der Bedeutung dieser Beobachtungen für die Bewertung der Schädlichkeit der Friedmannbazillen sei auf die Ausführungen p. 273 verwiesen.

(100), Kaufmann (56, 57), Piorkowski (95), Meinicke (80) und Ehrlich-Boehncke (22) mitgeteilt.

Nach Rabinowitsch (100) war bei den mit dem „Mittel“ angestellten Tierversuchen kein merklicher Unterschied zwischen den 2—3 Wochen alten und den 24—48-stündigen Proben zu erkennen. Während einige Tiere $\frac{1}{2}$ Ampulle ohne krankhafte Veränderungen ertrugen, wies ein subkutan geimpftes, nach 3 Monaten verstorbene Tier außer verdächtigen Leberherden einen erbsengroßen Impfabseß auf, aus dem keine Säurefesten, wohl aber Staphylokokken isoliert werden konnten. Ein subkutan mit $\frac{1}{2}$ Ampulle No. 3 = 5 mg geimpftes Tier ging nach 3 Monaten ein und wies geringe Vergrößerung der Inguinal- und Iliacaldrüsen und der Milz, ferner in der Leber drei verdächtige miliare Knötchen auf. In der Leber wurden durch Ausstrichpräparate und Kultur säurefeste Stäbchen nachgewiesen. Rabinowitsch bezeichnet demnach das Friedmannsche Mittel als nicht „gänzlich harmlos“.

Als ganz aus den Befunden der übrigen Forscher, abgesehen etwa von Schröder, herausfallend, sind die Ergebnisse Kaufmanns (56, 57) zu bezeichnen.

Er hatte am 9. II. 1914 ein Meerschweinchen mit 0,2 ccm einer Ampulle I, also mit 2 mg geimpft. Tod nach 20 Tagen. Mäßig ausgebreitete makroskopische, mikroskopisch sichergestellte Tuberkulose. Die Milz wurde auf ein 2. Meerschweinchen weiterverimpft. Tod nach 36 Tagen: Schwere Tuberkulose von Bauchfell, Leber, Milz, Lunge und Drüsen. Hiervon Verimpfung auf 3 weitere Tiere, die ebenfalls an schwerer Tuberkulose starben.

Angesichts dieses mit allen anderen Beobachtungen, selbst der von Schröder, der ja viel massiver impfte (70 mg intraperitoneal), in Widerspruch stehenden Befundes kann man die Vermutung nur schwer unterdrücken, daß entweder das erste Tier schon vor der Impfung tuberkulös war, oder daß unabhängig von der Impfung noch eine Infektion des Tieres mit echten Tuberkelbazillen stattgefunden hat, was insofern einigermaßen möglich erscheint, als der Versuch — wie übrigens auch der von Schröder (107) — in der Lungenheilstätte Schömberg vorgenommen wurde.

Der Tierversuch, über den Meinicke (80) berichtet, hebt sich vor den anderen durch die wiederholte Injektion des Mittels heraus.

Ein Meerschweinchen erhielt

am 19. I. 1914 0,2 einer Ampulle I intraperitoneal = 2 mg,

am 6. II. 1914 0,2 einer anderen Ampulle I intraperitoneal = 2 mg,

am 21. III. 1914 0,5 einer dritten Ampulle I intraperitoneal = 2 mg.

(Der Inhalt der 3. Ampulle war stark mit sporentragenden Bazillen verunreinigt.) Das Tier starb am 31. III. 1914 und bot folgenden Befund:

Impfkanal vereitert, mit zahlreichen kleinen grauen Knötchen. Leber und Milz verklebt, vergrößert, mit stecknadelkopf- bis linsengroßen grauen und gelben Herden besetzt, die sich bei der Leber auch in die Tiefe des Gewebes verfolgen lassen. Mikroskopisch waren im Eiter des Impfkanals, auf der Peritonealoberfläche und in verschiedenen Leberherden säurefeste Stäbchen zu finden. Die histologische Untersuchung (Dr. Ceelen) ergab in der Leber chronisch entzündliche, umschriebene Herde mit fibröser Kapsel und vereitertem Zentrum. Eine spurlose Resorption solcher Herde ist nach Ceelen unwahrscheinlich.

Zu diesem Falle wäre zu sagen, daß der Befund der säurefesten Stäbchen 10 Tage nach der letzten (3.) Injektion nicht überrascht. Nach dem histologischen Ergebnis liegt keine echte Tuberkulose, sondern die Bildung chronisch-eiteriger Granulationsknoten vor (Mangel der Verkäsung, Leukozytengehalt, fibröse Kapsel).

Bei den rasch wiederholten Injektionen war gar keine Gelegenheit zur Rückbildung gegeben. Friedmann (43) betrachtet diesen Fall als anaphylaktische Wirkung.

In dem Ehrlich-Boehneschen vorläufigen Bericht (22) finden sich Angaben über 10 von Friedmann selbst mit je 0,5 ccm seines Mittels — also wohl mit 5 mg — am 10. II. 1913 subkutan gespritzten Meerschweinchen.

4 Tiere verendeten interkurrent an Seuche, eines fiel durch vorgeschrittene Fäulnis aus. 4 Tiere, gestorben nach 23, 33, 33 und 49 Tagen, zeigten bei der Autopsie vereinzelte Knötchen an der Lunge, bzw. Leber, bzw. Milz. Mikroskopisch keine säurefesten Bazillen gefunden, außer bei dem nach 23 Tagen verendeten Tier No. 742, bei welchem eine erbsengroße Drüse an der Injektionsstelle (wohl Leistendrüse) zahlreiche schlanke säurefeste Stäbchen enthielt, in Schnitten keine spezifisch tuberkulösen Veränderungen. Bei dem letzten Tier No. 748 († am 26. Tage) wurden bei völlig normalem Organbefunde nachträglich in Schnitten durch die makroskopisch nicht veränderte Milz am äußeren Rande zahlreiche Nester säurefester Stäbchen gefunden.

Boehncke schließt für dieses Tier Spontan tuberkulose aus; ob aber die säurefesten Bazillen die Friedmannbazillen waren, habe sich nicht mehr feststellen lassen, da eine Kultur bei dem tot aufgefundenen Tier von vorneherein aussichtslos gewesen und bei dem normalen äußeren Organbefund auch gar nicht in Frage gekommen sei.

Unseres Erachtens erweckt der Befund den Verdacht, daß bei der Injektion eine kleine Menge unbeabsichtigt in die Bauchhöhle gekommen sei, was ja bei Tieren mit dünnen Bauchdecken für seltene Fälle nicht ganz auszuschließen ist.

Moellers (86) und Rabinowitsch in einem Nachwort hierzu bezeichnen die Organveränderungen an den 5 erwähnten Tieren ebenso wie

die auf p. 263 f. mitgeteilten als tuberkulöse oder zum mindesten tuberkuloseähnlich und vermissen, daß nicht alle verdächtigen Organstückchen auf neue, gesunde Tiere subkutan weitergeimpft wurden. Erst der negative Ausfall dieser Weiterimpfungen hätte die Diagnose: „Keine Tuberkulose“ gesichert¹⁾.

f) Aus Abszessen beim Menschen herausgezüchtete
Friedmannstämme.

Wenden wir uns schließlich den Meerschweinchenbefunden zu, die mit solchen Kulturen erhoben wurden, die aus sogenannten Friedmannabszessen beim Menschen herkommen.

Von vornherein muß erwähnt werden, daß hier die, wenn auch nur minimale, Möglichkeit besteht, echte Tuberkelbazillen aus dem Körper Tuberkulöser passiv auf die ersten Zuchten zu übertragen. Würde diese Gefahr den, kurz gesagt, tuberkulösen positiven Ausfall derartiger Versuche an Wert beeinträchtigen, so ist unseres Erachtens ein negativer Ausfall um so beweiskräftiger insoferne, als sich durch ihn ein Argument gegen die von einigen Seiten (siehe oben)

1) So sehr dieser Forderung beizupflichten ist, so darf hier zur Verteidigung Boehnckes doch vielleicht ausgesprochen werden, daß die erwähnten Versuche in die ersten Monate des Jahres 1913 fielen, also in eine Zeit, als der aufsehenerregende Fall Westenhöfers und die Befunde von Rabinowitsch noch nicht veröffentlicht waren. Es waren die ersten Versuche Boehnckes auf diesem Gebiete. Boehncke glaubte wohl sich mit dem Fehlen säurefester Stäbchen und typischen tuberkulösen histologischen Befunden zufrieden geben zu können. Daß harmlose Säurefeste derartige Knötchen erzeugen können, daß sie sich in Drüsen längere Zeit finden, war ihm aus der Literatur bekannt. Daß die vorgefundenen Organveränderungen kaum die Schuld am Tode der Tiere trugen, zu dieser Meinung war er wohl angesichts des zu dieser Jahreszeit häufigen Sterbens von Meerschweinchen ohne Organbefund bei der Sektion gekommen. Boehncke erwartete typische tuberkulöse Veränderungen, wie er sie von den Tuberkulinprüfungen her kannte, bei denen — nebenbei erwähnt — die Testtiere alle vorschriftsgemäß mit 0,5 mg Tuberkelbazillen infiziert werden. (Daher wohl auch die Wahl dieser Dosis bei den Immunisierungsversuchen!) Mit solchen echt tuberkulösen Veränderungen hatten die Befunde an den Tieren nichts gemein. Unseres Erachtens ist auf Grund unserer eigenen zahlreichen Beobachtungen, besonders auch unserer „Schröder“-Versuche und der Befunde von Rabinowitsch, mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß alle Weiterimpfungen negativ verlaufen wären.

ausgesprochene Befürchtung gewinnen läßt, es möchten die Friedmannbazillen im menschlichen Körper sich wieder ihrem supponierten Ausgangstypus, eben den humanen Bazillen annähern. Und zwar wird eine Nichtinfektiosität um so höher im angedeuteten Sinne zu bewerten sein, je länger vor der Herauszüchtung sich die Friedmannschen Bazillen im Körper befunden haben. Angaben über derartige Versuche liegen von Barnes (6), Rabinowitsch (100), Neumann (89), Bischoff und Schmitz (12) und Fromme (46) vor.

Barnes (6) verimpfte am 15. V. 1913 Bazillen aus einer Glyzerin-agarkultur, die er aus einem Glutäalabszeß eines mit dem Mittel geimpften Patienten (Patientin?) des Rhode Island Sanatoriums gewonnen hatte, intraperitoneal bzw. subkutan auf je 1 Meerschweinchen. Beide Tiere zeigten stets Wohlbefinden, und bei der nach 70 Tagen, am 26. VIII., erfolgten Tötung konnte bei keinem der Tiere eine tuberkulöse Veränderung festgestellt werden („no evidence of tuberculosis could be found“).

(Es dürfte sich hier um den gleichen Stamm handeln, den Barnes an Lydia Rabinowitsch geschickt hatte. Diese berichtet (100), daß der Stamm bei Zimmertemperatur vorläufig besser wachse und große Ähnlichkeit mit dem Dubard-Terreschen Karpfenbacillus habe. Vermutlich ist diese Bevorzugung der niedrigeren Züchtungstemperatur einfach auf die Vermehrung der Bazillen während des Transportes von Amerika her und die dabei erfolgte Anpassung an die „Zimmertemperatur“ zurückzuführen.)

Rabinowitsch (100) hatte jedenfalls im Juni 1913 von Barnes einen Stamm erhalten, den dieser aus einem Impfabseß bei einer von Friedmann selbst geimpften Patientin gezüchtet hatte. Sie bringt keine genaueren Angaben über Tiere, die mit dieser „amerikanischen“ Kultur geimpft waren, so daß man schließen muß, daß die betreffenden Tiere zu jener Reihe von Meerschweinchen gehörten, die nach subkutaner wie intraperitonealer Impfung mit 0,5—2 mg teils monatelang lebten, und bei der Sektion ohne jede Veränderung waren, teils aber nur vereinzelte, „mehr oder weniger ausgesprochene tuberkuloseverdächtige Herde in den vergrößerten Drüsen, Leber oder Milz“ hatten, die bei Weiterverimpfung keine tuberkulösen Prozesse hervorriefen.

Rabinowitsch züchtete sich ferner aus einem ihr am 20. I. 1914 übergebenen Eiter aus einem Glutäalabszeß eine Kultur, die sie ebenso wie den Eiter und tuberkulöses Granulationsgewebe (mit epitheloiden und Langhansschen Riesenzellen!) auf Meerschweinchen verimpfte.

Auch diese Tierversuche waren zur Zeit der Veröffentlichung der Arbeit noch nicht abgeschlossen. Auch sie dürften aus den oben

p. 263 angegebenen Gründen bei der Weiterverfolgung kaum zum Auftreten typischer Meerschweinchentuberkulose geführt haben.

Fromme (46) stellte Tierversuche mit Brustdrüsen-eiter und dem daraus gezüchteten Stamm von Friedmannbazillen an.

Es handelte sich um eine 36-jährige Frau, bei der, wohl ausgelöst durch einen etwa 4 Wochen nach der (2.) intravenösen Einspritzung von Friedmanns Mittel erlittenen Stoß, 2 Wochen später zunächst in der rechten, nach weiteren 3 Wochen auch in der linken Mamma Tumoren aufgetreten waren, in deren Eiter die Friedmannbazillen mikroskopisch und kulturell nachgewiesen wurden. Die Bazillen hatten also etwa 4 Wochen nach der letzten Injektion noch im Körper der Patientin gekreist¹⁾. Der Stamm wurde am 28. IV. 1914 herausgezüchtet. Fromme schreibt in der am 25. VII. 1914 erschienenen Veröffentlichung: „Bei den mit dem Ausgangsmaterial wie mit großen Dosen der aus dem Abszeß gezüchteten Stäbchen geimpften Meerschweinchen und Kaltblütern sind bisher keine tuberkulösen Veränderungen aufgetreten.“

Wie ich von Herrn Prof. Fromme erst kürzlich persönlich erfahren habe, ist auch weiterhin keines der Meerschweinchen an Tuberkulose erkrankt oder eingegangen.

Neumann (89) verimpfte Fistelsekret aus einem 48 Tage nach der Impfung durchgebrochenen Abszeß einer Patientin auf 2 Meerschweinchen.

Eines dieser Tiere wies nach der Tötung ein großes verkästes Mesenterialdrüsenpaket und ziemlich viele bis erbsengroße erweichte Knoten in der Leber auf, während die Impfung des anderen Tieres ein negatives Ergebnis hatte. (Angaben über die Art der Impfung und den Zeitpunkt der Tötung fehlen, doch weist der Befund und die untenstehende Zeitangabe über die Tötung eines anderen Tieres darauf hin, daß wohl intraperitoneale Impfung und Tötung nach etwa 3 Wochen vorlag.)

Mikroskopisch wurden schlanke Stäbchen von typischer Säure-, geringerer Alkoholfestigkeit gefunden. Die Kultur wuchs bei Zimmertemperatur sehr üppig, schmierig, bei 37° schlechter. Mit dieser Reinkultur (Dosis?) wurde wiederum 1 Meerschweinchen und 1 Kaninchen geimpft. Bei der Tötung nach 3 Wochen (!) wurden bei dem Meerschweinchen hochgradige Degeneration der parenchymatösen Organe und einzelne Knötchen der Leber und Milz vorgefunden. Das Kaninchen wies in der Leber verschiedene hanfkorngroße Knötchen auf. „Die mikroskopische Unter-

1) Barnes (6) teilt mit, daß im Zentrifugat von 10 cem Blut von 9 Patienten 34 Tage nach der Injektion keine Friedmannbazillen nachzuweisen waren; ebenso erwies sich 5 Tage nach der Einspritzung der Harn von 10 Patienten als frei von ihnen.

suchung steht noch aus, so daß ich noch nicht von Tuberkeln reden kann.“ Das Mittel sei also nicht ganz harmlos, „ruft es doch im Tierversuch gelegentlich Tuberkel- bzw. Knotenbildung hervor.

Wir dürfen wohl annehmen, daß auch Neumann im weiteren Verlaufe seiner Versuche nicht zu Befunden einer typischen Tuberkulose gekommen ist.

g) Allgemeine Bemerkungen zu den Meerschweinchenversuchen.

Wie wir schon des öfteren hergehoben haben, müßte man es als eine unbedingte Pflicht eines jeden, der mit Friedmannstämmen beim Meerschweinchen — unmittelbar oder erst nach mehreren Durchschickungen — eine typische Tuberkulose erzeugen oder beobachten konnte, bezeichnen, von diesen Befunden in der Fachpresse Kenntnis zu geben.

Nun liegen eigentlich von hierher gehörigen Feststellungen nur die schon erwähnten und kritisch beleuchteten von Kaufmann (56, 57) und Schröder (107) vor. Beide sind am gleichen Orte, in der Lungenheilstätte Schömberg, erhoben worden. Trotz den ausdrücklichen Angaben Schröders, daß sowohl eine vorherige [negative Intrakutanreaktion! — die übrigens nach eigenen Beobachtungen wie nach den neuerlich veröffentlichten Befunden von H. Müller (88) nicht völlig beweisend erscheint] noch eine nachfolgende Spontaninfektion ausgeschlossen sei, muß unseres Erachtens die Frage nach einer „Rückumwandlung“ der Friedmannbazillen zu echten Tuberkelbazillen bis jetzt noch offen bleiben.

Von den Kaufmann-Schröderschen Beobachtungen abgesehen, ist also bis jetzt nirgends eine allmählich gesteigerte Pathogenität der Schildkrötentuberkelbazillen für Meerschweinchen nachzuweisen gewesen.

Es darf wohl auch noch auf einen Punkt aufmerksam gemacht werden: Selbst bei Schröder und Kaufmann, wie auch bei Neumann (89) u. a. fanden sich die tuberkulösen Veränderungen stets nur bei einem von zwei oder mehreren gleichartig, und zwar meist mit recht beträchtlichen Impfmengen infizierten Tieren. Man vergleiche damit das Verhalten der Meerschweinchen gegenüber der Impfung mit

echten Tuberkelbazillen. Wenn sich auch unter Umständen große zeitliche Unterschiede finden, so dürfte der Befund, daß von 2 Tieren nur eines erkrankt, das andere aber gesund bleibt, nur auf solche Fälle beschränkt bleiben, wo die Zahl der Tuberkelbazillen im Impfmateriel eine verschwindend kleine und unregelmäßige war oder wo es sich um äußerst geschädigte, alte, zum Teil abgestorbene Kulturen handelt, niemals aber bei Impfung unter den Verhältnissen, wie sie bei all den erwähnten „Friedmannversuchen“ bestanden.

Und schließlich würde die wirklich nachgewiesene Möglichkeit einer Virulenzsteigerung für das Meerschweinchen immer noch nicht unbedingt für eine Gefährlichkeit des Impfstoffes für den Menschen sprechen, denn derartige künstlich dem Meerschweinchen angepaßte Bazillen werden eben nicht auf den Menschen verimpft. Eine gewisse Analogie läge erst dann vor, wenn man die Friedmannbazillen von Mensch zu Mensch, unter Zwischenschaltung von nur einer oder wenigen Züchtungen auf künstlichen Nährböden vornehmen wollte. Doch daran wird niemand denken ¹⁾.

Man könnte auch noch die Frage aufwerfen, ob denn ein gesteigertes Knötchenbildungsvermögen den Schluß auf eine engere Verwandtschaft mit den Warmblütertuberkelbazillen zu einem zwingenden macht, nachdem für alle Säurefesten grundsätzlich diese Eigenschaft festgestellt ist — sie mag unter Umständen mehr oder weniger latent sein — und nachdem Virulenzsteigerung durch Tierpassagen zu den „Gesetzen“ der allgemeinen Bakteriologie gehört.

Die Franzosen bezeichnen die Forderung, daß sich Tuberkulose weiterverimpfen lassen müsse, als „la loi de Hippolyte Martin“ (Philibert, 94, p. 59). Es sei erwähnt, daß Philibert bei Gelegenheit der Besprechung des Beckschen *B. tuberculoïdes* II, der aus einem Mandelpfropf gewonnen war, an der unbedingten Gültigkeit dieses Gesetzes zweifelt (p. 63).

1) Wenn ein derartiges Vorgehen auch vom Standpunkte der „Jennerisierung“ aus an sich als nicht so absurd bezeichnet werden könnte, als es zunächst den Anschein hat, so werden wir im Berichte über die Immunisierungsversuche der Jahre 1919 und 1920 darauf eingehen, auf welch schwachen Füßen der immer wiederkehrende Vergleich der Friedmannbehandlung mit der Schutzpockenimpfung steht.

Auch nach Meinicke (80) ist der Umstand, daß mit den Friedmannbazillen keine Weiterimpfung von Tier zu Tier gelinge, kein bindender Beweis gegen die tuberkulöse Art. Zum Vergleiche zieht er die früheren Erfahrungen mit dem Poliomyelitis-Virus heran. Eine „gewisse Pathogenität“ sei den Friedmannbazillen „nicht abzustreiten“.

h) Zusammenfassung.

Wenn wir alle vorliegenden Literaturangaben über das Verhalten der Friedmannbazillen im Meerschweinchen zusammenfassen, so wird man etwa folgendes sagen können:

Neben völlig negativen Befunden bei Verimpfungen in Dosen, die für den Fall, daß es sich um echte oder den echten sehr nahestehende Tuberkelbazillen handelt, unbedingt zu einer tödlichen Erkrankung der Tiere führen mußten, finden sich zahlreiche Beobachtungen, nach denen es zu mehr oder oder weniger tuberkulose**ähnlichen** Veränderungen gekommen ist.

Aber alle diese festgestellten Knötchen und Abszesse sind, darin muß man Friedmann und Kruse unseres Erachtens unbedingt beistimmen, unter den Begriff der „Fremdkörpertuberkel“ zu fassen. Bietet einerseits der häufige Befund von reichlicher Beimengung von Leukocyten und von mehr weniger ausgesprochenen bindegewebigen Kapseln um die Herde schon einen Hinweis für einen Unterschied gegenüber echten Tuberkeln, so kann andererseits dem Vorkommen von Riesenzellen nicht die unbedingt beweisende Kraft für „echte“ Tuberkulose zugeschrieben werden, wie das von vielen Seiten geschah. Es ist bekannt, daß auch durch abgetötete Tuberkelbazillen, durch sicher saprophytische Säurefeste, ja auch durch pflanzliche Partikel (siehe z. B. v. Gyergyai, 51) das Auftreten von Riesenzellen hervorgerufen wird. Kirch (58) fand in den Pseudotuberkeln bei experimentellem Paratyphus spärliche und vereinzelte Riesenzellen. Nach Apostopoulos (bei Kirch zitiert) sind sie sogar häufig und konstant.

Ueber ein Angehen und — wie aus allgemeinen Erfahrungen zu erwarten ist — eine Steigerung der Infektion bei Weiterverimpfung erkrankter Organstücke auf Meerschweinchen liegen bis jetzt nur die Befunde von Kauf-

mann und von Schröder vor. Die Einwände und Bedenken gegen diese Feststellungen sind oben ausgesprochen.

Es muß ferner hervorgehoben werden, daß bei gleich starker und meist — am echten Tuberkelbazillus gemessen — sehr hochgradiger Infektion fast immer nur ein einziges Tier krankhafte Veränderungen zeigte. Dieses Verhalten als „individuelle Disposition“ aufzufassen, liegt nahe, gibt aber statt einer Erklärung nur Worte. Jedenfalls kann gegenüber echten Tuberkelbazillen von einem derartig weit auseinandergehende Folgen herbeiführenden Einfluß individueller Disposition der Meerschweinchen keine Rede sein.

Viel eher wird man das so ungleiche Beantworten der Infektion auf ein „Nichtfestgewordensein“ der Stammeseigenschaften des Schildkrötentuberkelbazillus zurückführen können.

Durch dieses Verhalten nähern sich die Friedmannbazillen den Saprophyten. Von vielen Saprophyten, z. B. dem Heubazillus, den saprophytischen „Säurefesten“ kennt man diese „Pathogenität nur unter gewissen Umständen“.

- Was schließlich die von Boehrcke-Ehrlich mitgeteilte Toxizität einer bestimmten Kultur betrifft — vgl. hierzu Friedmanns Bemerkungen (43) — so liegen von anderer Seite, z. B. Sörgo und Suess, Klemperer ganz entsprechende Beobachtungen an anderen Säurefesten vor. Die Frage, wie weit hierbei spontan bei Meerschweinchen vorkommende Erkrankungen mitspielen, scheint uns noch nicht geklärt zu sein. Jedenfalls haben wir an spontan eingegangenen Vorratsmeerschweinchen, namentlich zu Zeiten ungünstiger Witterung und schlechter Futterverhältnisse (Futter durchnäßt und durchkältet) ganz entsprechende Bilder eines nur als „negativ“ zu bezeichnenden Sektionsbefundes oft erheben können (oder besser gesagt: müssen).

Auf den Zusammenhang von Friedmannimpfung und Meerschweinchen-seuche werden wir bei der Mitteilung unserer eigenen Versuche noch zu sprechen kommen.

4. Das Verhalten der Friedmannbazillen in anderen Laboratoriumstieren.

Für die Beurteilung des Verwandtschaftsgrades der Friedmannbazillen zu den Warmblütertuberkelbazillen kommt natür-

lich in allererster Linie das Meerschweinchen in Betracht.

Daher seien die in der Literatur vorliegenden Befunde an anderen Laboratoriumstieren nur ganz kurz behandelt. Zunächst die Kaninchenbefunde!

Friedmann selbst (27) berichtet über eine mit Lungenknötchen der Ausgangsschildkröte, also dem „I. Stamm“ subkutan geimpftes Kaninchen, das bei der Tötung nach 3 Monaten nur einen kleinen verkästen Knoten an der Impfstelle aufwies.

Ein mit 3 Oesen des III. Stammes subkutan geimpftes, nach 3 Monaten getötetes Tier ergab einen ähnlichen, auf die Impfstelle beschränkten geringfügigen Befund, während sich bei einem mit 0,5 ccm Kulturemulsion, also etwa 5 mg intravenös geimpften Tiere in der Lunge 3 kleine, miliare, scharf bindegewebig umgrenzte Herde aus Epitheloid- und Rundzellen mit spärlichen zerfallenen säurefesten Stäbchen fanden.

Boehncke-Ehrlich (22) und Schröder (107) stellten völlige Avirulenz fest. Der letztere sogar bei intravenöser Verimpfung von 50 mg, worüber er sich folgendermaßen äußert: „Da wir den Friedmannstamm für eine Abart des humanen Tuberkuloseerregers ansehen, ist dieses Versuchsergebnis nicht weiter auffallend“.

L. Rabinowitsch (100) fand bei Verimpfung größerer Kulturmengen ähnliche Veränderungen wie bei Infektion mit humanen Tuberkelbazillen.

Die Befunde, soweit solche überhaupt erhoben wurden, schließen sich den bei anderen Kaltblütertuberkelbazillen, z. B. dem Froschbazillus (Küster, 74) gewonnenen an.

Was die an sonstigen Laboratoriumstieren (Mäusen, Ratten, Hühner usw.) beobachteten Impferfolge betrifft, so wird auf sie jeweils bei der Besprechung unserer eigenen Ergebnisse kurz eingegangen werden.

Hier sei nur noch erwähnt, daß Friedmann (31) für seinen I. Stamm angibt, er sei für Affen vollständig avirulent und harmlos, wie das Moeller (84) für seinen Blindschleichenstamm ebenfalls feststellte.

Bis zu einem gewissen Grade dürfen auch die Affen als ein „Testtier“ für Warmblütertuberkulose bezeichnet werden. Herrscht auch darüber, ob sie mehr für den humanen als für den bovinen Typus empfänglich sind, keine volle Uebereinstimmung, so besteht doch kein Zweifel, daß sie durch beide Typen infiziert werden können.

L. Rabinowitsch (98) fand von 27 Affen 19 mit dem humanen, 3 mit dem bovinen Typus, 1 mit beiden Typen, 1 mit Geflügeltuberkulose und 3 mit „atypischen“ Stämmen infiziert. Die krankhaften Veränderungen gingen mit den infizierenden Typen nicht parallel.

Nach E. A. Lindemann (77) allerdings nicht sehr zahlreichen Befunden besitzt der humane Typus dem Affen gegenüber eine größere Virulenz als der bovine.

Die Affen — ein jetzt allerdings unerreichbares Versuchstier — dürften sich zur Prüfung der Frage, ob eine Rück- oder Umwandlung der Friedmannbazillen zu Warmblütertuberkelbazillen möglich und daher zu befürchten ist, hervorragend eignen.

5. Das kulturelle Verhalten der Friedmannbazillen.

Wenn wir nunmehr zu den Angaben über das kulturelle Verhalten der Friedmannbazillen übergehen, so seien wiederum die Äußerungen Friedmanns (27) über seinen I. Stamm vorangestellt.

Er hebt hervor, daß die Schildkrötentuberkelbazillen schon in der ersten bei 37° gezüchteten Generation den Säugetiertuberkelbazillen außerordentlich ähnlich sähen.

Von den einige Wochen bei 37° gewachsenen Kulturen wurde eine Reihe von Uebertragungen auf Glycerinagar gemacht und wiederum bei 37° gehalten. „Diese Kulturen sind von denen menschlicher Tuberkelbazillen nun nicht mehr unterscheidbar.“

Gegenüber dieser II. Generation wuchs die III. Generation „vollends wieder beträchtlich langsamer“. Es traten nur einzelne trockene körnige Knoten auf. Die ganzen Bazillenmassen erhalten schließlich ein „gebirgsartiges Wachstum“.

Auf Glycerinbouillon gibt der Schildkrötentuberkelbazillus runzlige, brüchige oder flache Häutchen genau wie der Kochsche Bazillus. Mikroskopisch sind die bei 37° gewachsenen Schildkrötenbazillen nach Färbung, Form, Länge und Dicke „völlig ununterscheidbar von denen menschlicher Kulturen.“

Das Bestreben, eine „Rückannäherung“ der Schildkrötentuberkelbazillen an ihren vermuteten ursprünglichen humanen Typus erkennen zu geben, tritt bei dieser Schilderung deutlich zutage. Auf den unseres Erachtens tiefgreifenden Unterschied 1) des Wachstumsvermögens bei Zimmertemperatur, 2) des so äußerst raschen und üppigen Wachstums bei 37° wird nicht näher eingegangen.

Nach den Untersuchungen von C. Fraenkel (24) erhielten Säugertuberkelbazillen erst nach allmählicher, sich über 6 Jahre erstreckender Anpassung an stufenweise verminderte Temperatur die Fähigkeit, bei 21° zu wachsen; eine Vermehrung war aber erst nach 6 Wochen deutlich. Bei einigen Stämmen trat allerdings auch bei sofortiger Uebertragung auf Zimmertemperatur Wachstum ein, dieses war dann aber noch spärlicher und kümmerlicher als das der allmählich angepaßten Kulturen.

Aus dem Umstande, daß eine Wachstumsfähigkeit von Kaltblütertuberkelbazillen bei 37° bis zur Entdeckung der Schildkrötentuberkelbazillen nicht bekannt war, ist es begreiflich, daß Friedmann durch diese kulturelle Eigenschaft seiner Bazillen im Zusammenhalt mit den Tierexperimenten auf den Gedanken einer besonders nahen Verwandtschaft zu den menschlichen und Rindertuberkelbazillen kommen konnte.

Heute haben wir es viel leichter, die Verhältnisse kritischer zu betrachten als damals Friedmann. In der Zwischenzeit sind eine Reihe von säurefesten Bazillen bekannt geworden, die bestimmt mit echten Tuberkelbazillen nichts zu tun haben, aber mit dem Schildkrötenstamm die gleiche Wachstumsfähigkeit bei 37° und die gleichgroße Aehnlichkeit der Kulturen mit Tuberkelbazillenkulturen gemeinsam haben.

Hier seien nur die Beobachtungen von Weber und Taute (123) an ihren aus normalen Fröschen herausgezüchteten Moos- und Schlamm-bazillen, die Trompetenbazillen von Jakobitz, Keyser und Schmitz (56), in gewisser Hinsicht auch die beiden „Tuberkuloiden“ Becks (8) erwähnt.

Die bis zu Friedmann bekannten „Kaltblütertuberkelbazillen im engeren Sinne wachsen bei Bruttemperatur nicht.

Bei dem Bestreben, sie an diese höheren Temperaturen anzupassen, hatten Küster (74) und Dieudonné (19) (nur bis 30°) u. a. Mißerfolge.

Dostal (18) will allerdings nach Schütteln und Stehenlassen in destilliertem Wasser aus Blindschleichenbazillen auch bei 37° wachsende Kolonien erhalten haben¹⁾.

Während Moellers (83) Blindschleichenbazillus bei Körpertemperatur nicht wuchs, berichtet Aujeszky (4), daß es ihm (ähnlich wie vor ihm Dubard durch Tierpassagen) gelungen sei, durch stufenweise Anpassung, auf Glyzerinkartoffeln den mit dem Moellerschen identischen Fischbazillus Dubard schon in der 5. Generation an 37°, ja später sogar auf 41–42° zu gewöhnen. Bemerkenswert ist, daß die 37°-Kulturen sowohl kulturell —

¹⁾ Eine jüngst von Král bezogene Kultur: „Froschbazillus Dostal“ erwies sich uns als überhaupt nicht säurefest und für Frösche völlig avirulent!

von einem etwas schnelleren Wachstum abgesehen — wie in ihrer Virulenz für Meerschweinchen, Kaninchen und die anderen kleinen Laboratoriumstiere den Menschen- und Rindertuberkelbazillen äußerst ähnlich wurden. Bei 3 Kälbern erwiesen sie sich avirulent.

Diese interessanten Ergebnisse Aujeszky's sind unseres Wissens bis jetzt noch nicht bestätigt worden. Daß sie auch auf die Herkunfts- und Virulenzfrage der Friedmannschen Bazillen ein bedeutsames Licht werfen, ist klar. Angesichts der grundlegenden Bedeutung müßte man nur genauere Angaben wünschen, als sie Aujeszky macht. Eine endgültige Entscheidung über die Umwandlungsfrage haben sie in der vorliegenden Form noch nicht gebracht.

Die Mitteilungen Friedmanns über das kulturelle Verhalten seines III. Stammes finden bei allen sich darüber äußernden Forschern eine Bestätigung. Eine Nennung der einzelnen Namen erübrigt sich wohl.

Uebereinstimmend wird das schmierig-rahmige Wachstum bei Zimmertemperatur, das mehr trockene borkige bei 37° angegeben. Unterschiede in der Ueppigkeit des Wachstums je nach der Temperatur werden wohl erwähnt, doch finden sich in dieser Hinsicht nur geringgradige und nicht konstant gebliebene Verschiedenheiten. Auf eine diesbezügliche Beobachtung von L. Rabinowitsch (100) sind wir oben (p. 270) bereits kurz eingegangen. Auch sie teilt mit, daß sich anfängliche geringgradige Unterschiede bei ihren verschiedenen Friedmannkulturen später bei gleichen Züchtungsbedingungen ausgleichen.

Zusammenfassend darf man sagen, daß im kulturellen Verhalten doch ein großer Unterschied gegenüber den Warmblütertuberkelbazillen besteht, der die Friedmannschen Bazillen nach der Seite der saprophytischen Säurefesten zu drängt.

6. Das mikroskopische Verhalten der Friedmannbazillen.

Auch bezüglich des mikroskopischen Verhaltens, auf das schließlich noch kurz einzugehen ist, herrscht im großen und ganzen Uebereinstimmung.

Wenn auch Friedmann (27), wie oben p. 277 schon erwähnt, in seiner ersten genaueren Mitteilung über den I. Stamm eine völlige Ununterscheidbarkeit nach Färbung, Form, Länge und Dicke vom Warmblütertuberkelbazillus behauptet, so geht aus seiner Abbildung doch

für die bei 22° gewachsenen Bazillen hervor, daß sie deutlich kürzer als die humanen Tuberkelbazillen sind.

Für den III. Stamm heben fast alle Autoren hervor, daß die Bazillen plumper, dicker und kürzer als die humanen Tuberkelbazillen sind. Sie nähern sich somit morphologisch mehr dem Typus bovinus.

Windrath (126) vermißt die „typische Lagerung“ (Pinsel- und Zopfform).

Den echten Tuberkelbazillen gegenüber wird auch die Säurefestigkeit als weniger ausgesprochen bezeichnet, z. B. Baumann (7), Barnes (6), und zwar nicht nur bei jungen, sondern teilweise auch bei älteren Kulturen.

Nach Baumann sind die Friedmannbazillen auch leichter verreibbar als die Tuberkelbazillen, „stehen überhaupt den Kaltblütertuberkelbazillen näher als den Warmblütertuberkelbazillen“.

Ueber die Färbung nach Much finden sich bei Windrath (126) Angaben.

Er fand im Friedmannschen „Mittel“ hauptsächlich Granula, teils kurze, teils langgezogene und viele Splitter. Die Körnchen aus ein und derselben Reihe zeigten eine verschiedene Färbung.

Die Körnung der Bazillen wird mehrmals erwähnt.

Barnes (6) spricht von beaded („geperlten“) Bazillen, die er im Eiter von 8 Friedmannabszessen gesehen habe.

Piorkowski (95) will die bei der Muchfärbung auftretenden Körnchen zur Klassifizierung und Erkennung der pathogenen Säurefesten heranziehen.

Nach ihm sind bei den humanen Tuberkelbazillen die Körnchen gleichmäßig, bei den bovinen dagegen ungleichmäßig verteilt; zum Teil einzelne Körner zu sehen. Die Geflügeltuberkelbazillen wiesen nur wenige, unregelmäßige Körnchen auf; die Schildkrötentuberkelbazillen zeichneten sich durch die Kleinheit ihrer Stäbchen, die meist nur mit einem Kern versehen seien, und durch das häufige Vorkommen freiliegender Körner aus¹⁾.

¹⁾ Zur Frage der „freiliegenden“ Körner siehe Leo Mindes (81). nach welchem Autor in Burripräparaten zu jedem Körnchen ein Stäbchen vorhanden ist; zur Körnerfrage bei der Ziehlfärbung vgl. E. Fitschen (23), nach der alle Körner beliebig erzeugbare Kunstprodukte, bei dem Akte der Säuredifferenzierung entstehend, sind.

Es braucht wohl kaum betont zu werden, daß sich aus dem mikroskopischen Verhalten der Einzelstäbchen keine bindenden Schlüsse auf den Grad der Verwandtschaft der Friedmannschen Bazillen zu den Warmblütertuberkelbazillen ziehen lassen. Aber das eine bleibt doch bestehen, daß gewisse Unterschiede festzustellen sind.

II. Eigene Untersuchungen.

1. Einleitung.

Wie schon eingangs erwähnt, hatten die Untersuchungen des Jahres 1914 zunächst den Zweck, den Friedmannschen Impfstoff auf sein Verhalten gegenüber den gebräuchlichen Laboratoriumstieren zu prüfen und dabei ein Urteil über den Grad seiner Verwandtschaft zu echten Tuberkelbazillen zu gewinnen.

Die Versuche erfuhren durch den Krieg eine Unterbrechung, noch bevor die ebenfalls geplante Prüfung auf die Heil- und Schutzwirkung des Mittels gegenüber experimenteller Tiertuberkulose in Angriff genommen war. Auch die allerdings von vornherein nur wenig Aussicht auf Erfolg versprechende serologische Prüfung mit spezifischen Immunitätsreaktionen war in Aussicht genommen, aber aus den gleichen Gründen noch vor dem Kriege unterblieben. Beides ist inzwischen nachgeholt. In einer zweiten Veröffentlichung von Uhlenhuth, Lange und Kersten wird darüber berichtet werden.

Die vorliegenden Versuche stehen, was die Zahl der Versuchstiere betrifft, hinter den Ehrlich-Boehnckeschen zurück. Sie beziehen sich auch nur auf 2 Proben des Mittels und die daraus gezüchteten Stämme. Immerhin dürfte ihre Veröffentlichung, da auch andere als die von Ehrlich-Boehncke und anderen Autoren herangezogenen Arten von Versuchstieren benutzt wurden und sich auch in den Dosen, wie in einigen anderen Einzelheiten, Unterschiede finden, als Ergänzung nicht unberechtigt sein.

2. Das Wachstum der Friedmannbazillen in den Kulturen.

Am 14. I. 1914 wurde aus einer frischbezogenen Ampulle 2 und 4 des Mittels je auf 15 verschiedene Röhrchen und einen Kolben mit saurer Glyzerinbouillon (sogenannte

Tuberkelbazillenbouillon) unter besonderen Vorsichtsmaßregeln verimpft und immer, wo es die Art des Nährbodens gestattete, ein Teil der Kulturen bei 37°, ein anderer bei Zimmertemperatur bebrütet.

Zur Verwendung kamen folgende Nährböden:

Rinderserum, Rinderserum mit Glyzerin, Rinderserum mit Glyzerin und Malachitgrün nach Taute, alkalischer Agar, schwachsaurer Glyzerinagar (Tuberkelbazillenagar), alkalische Gelatine, alkalische Bouillon, schwachsaure Bouillon mit Glyzerinzusatz (Tuberkelbazillenbouillon).

Am 15. I. waren sämtliche Röhrchen und die Kolben ohne erkennbares Wachstum. Ebenso wenig war am 16. I. irgendwo Wachstum festzustellen. Die Gelatineröhrchen, die im 22°-Brutschrank gestanden hatten, waren, da die Temperatur über 25° gestiegen war, zusammengesunken, so daß jetzt statt Schräggelatine gerade erstarrte Gelatine vorlag.

Am 17. I. machte sich bei den meisten Röhrchen, die bei Zimmertemperatur gehalten wurden, beginnendes Wachstum erkennbar. Bei den Kulturen, die bei 37° gehalten wurden, war das Wachstum viel weniger stark.

Die Befunde vom 19. I., also am 5. Tage, sind aus Tabelle I (p. 284/85) zu entnehmen.

Auf der Tabelle sind der Raumerparnis halber getrennte Angaben für die Abimpfungen aus Ampulle 2 (= Fr. 2) und Ampulle 4 (= Fr. 4) nur da gemacht, wo sich einigermaßen größere Unterschiede fanden. Im großen und ganzen verhielten sich die Abimpfungen aus den beiden Ampullen auf dem gleichen Nährboden identisch.

In der Tabelle ist ferner der Befund nach etwa 4 Wochen eingetragen.

Ueber die Befunde ist zusammenfassend folgendes zu sagen:

Nach den ersten 5 Tagen zeigten im allgemeinen die bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturen ein besseres Wachstum als die 37°-Kulturen, während sich dieser Unterschied später ausgleicht. Die ersteren sind von Anfang an und bleiben stets saftiger, rahmiger, käsiger und glänzender als die mehr matten und trockenen Brutschrankkulturen. Nur auf dem Malachitgrün-Glyzerinserum nach Taute waren bei 37° schon nach 5 Tagen üppige, glänzende Beläge festzustellen. Die begünstigende Wirkung dieses Nährbodens auch auf die Friedmannbazillen darf vielleicht als ein Hinweis auf die Verwandtschaft zu den Kaltblüterbazillen, für die ja der Nährboden optimal ist, verwertet werden.

Ganz allgemein begünstigt der Glyzeringehalt der Nährböden das Wachstum. Auf gewöhnlichem glyzerinfreien Agar kommen die Bazillen nur langsam fort.

Auf dem letztgenannten Nährboden zeigen sich auch Erscheinungen von Polymorphie der Kolonien (Mutation), indem neben matten, körnigen Kolonien auf dem gleichen Röhrchen runde, nagelkopffartige, glänzende auftraten, die anfänglich den Verdacht einer Verunreinigung erweckten, sich aber bei mikroskopischer Untersuchung ebenfalls als aus Säurefesten bestehend erwiesen.

Während die jüngeren Kulturen ganz allgemein, abgesehen von ihrem so raschen Wachstum, wie es bei echten Tuberkelbazillen nie vorkommt, nach ihrem Aussehen kaum an solche denken ließen, erschienen alte Kolonien, namentlich solche auf Agar und Glycerinagar, den Tuberkelkulturen ähnlicher.

Im ganzen ist nach dem kulturellen Verhalten nur eine Zuteilung der Friedmannbazillen zu den Kaltblütertuberkelbazillen und den sonstigen sogenannten Säurefesten möglich.

Was die Frage der Verunreinigung der beiden Proben betrifft, so ist eine strikte Entscheidung auf Grund meiner Befunde nicht ganz leicht. Wenn man auch das Glycerinserumröhrchen 4₁₇ hierbei ausschalten muß, da sich unter den Serumröhrchen bekanntlich immer eine gewisse Zahl von verunreinigten findet, so kann für das Serumröhrchen 4₂ und das alkalische Bouillonröhrchen 2₁₄ die Möglichkeit nicht ausgeschlossen oder abgestritten werden, daß die in ihnen beobachteten fremden Keime aus dem aufgebrachten Impfmateriel stammten, um so mehr als die Verimpfung, wie erwähnt, gerade in Anbetracht des Nachweises etwaiger Verunreinigungen mit besonderer Sorgfalt vorgenommen wurde. (Die Ampullen waren steril geöffnet und ihr Inhalt mit sterilen Spritzen, die viermal mit steriler Kochsalzlösung ausgespült worden waren, in ein steriles Röhrchen übertragen worden.)

Beachtenswert erscheint der Umstand, daß sich Verunreinigungen nur in den bei niedriger Temperatur gehaltenen Kulturen fanden, als ein Hinweis darauf, daß es sich bei ihnen wohl um Luftkeime saprophytischer Art gehandelt hat. Von der quantitativen Seite her betrachtet, geht, selbst wenn man annimmt, die fremden Keime seien schon im Ampulleninhalt vorhanden gewesen, hervor, daß es sich nur um verschwindend wenige Beimengungen gehandelt haben kann.

(Nach der Art, wie zur damaligen Zeit die Bereitung des Mittels gehandhabt wurde, war die Möglichkeit des Hineingelagens von Luftkeimen gegeben.)

Ohne auf diese ganze Frage, die ja inzwischen völlig gegenstandslos geworden ist, eingehen zu wollen, kann jedenfalls für die beiden damals von mir untersuchten Proben von einer groben Verunreinigung oder von der Beimengung einer irgendwie gefährlichen Art nicht gesprochen werden (vgl. Befund bei Meerschweinchen No. 3 auf p. 292).

Tabelle

Befunde an den am 14. I. 1914 aus		
am 19. I. 1914 (nach 5 Tagen)		
	37 °	Zimmertemperatur
Serum	2 ₄ } 0 5 } 4 ₂₀ 0 21 ?	2 ₆ sehr zarter, aus feinsten Kolonien bestehender Belag 4 ₂₂ ±, eine gelbe Kokkenkolonie!
Glyzerin-serum	2 ₁ } ++, matt, teilweise noch 2 } einzelne Kolonien erkennbar 4 ₁₇ durch Sporenbildner verunreinigt 18 ++, matt, einzelne Kolonien noch erkennbar	2 ₈ +, glänzend, weiß 4 ₁₉ +, etwas glänzender als 17 und 18, nicht zusammenhängend
Malachit-grün - Glyzerin-serum	2 ₁₆ ++, leicht glänzend 4 ₃₂ ++, glänzend, weiß	
Agar	2 ₇ 0 4 ₂₈ ±, matt, gekräuselt, grau-weiß	2 ₈ +, meist einzelne kleine Kolonien, bei Zusammenfließen weiß-glänzend 4 ₂₄ + grau-weiß, etwas glänzend
Glyzerinagar (sauer) (Tuberkelbazillenagar)	2 ₉ 0, später einzeln stehende Kolonien, die warzig in die Höhe wachsen (Kultur abgegeben) 4 ₂₅ eben beginnende Vermehrung: einzelne Häufchen	2 ₁₀ einzelne kleinstecknadelkopfgroße weiße Kolonien 4 ₂₆ mehrere größere glänzende Kolonien
Gelatine		2 ₁₁ faltige Haut, grauweiß, 1 1/2 cm tief verflüssigt 12 dünnere Haut, grauweiß, 1/2 cm verflüssigt 4 ₂₇ } keine Haut. Wachstum nur in der obersten Zone. 28 } Später Verflüssigung
Alkalische Bouillon (Röhrchen)	2 ₁₃ 0 4 ₂₉ 0	2 ₁₄ verunreinigt. Haut. Mikr. Sporenbildner 4 ₃₀ schwimmende Kolonien, etwas Bodensatz. Bouillon klar
Saure Glyzerinbouillon (Tb.-Bouill.) (Kolben)	2 ₁₅ 0 4 ₃₁ 0	

Abkürzungen: +++ Wachstum sehr üppig | + Wachstum mäßig,
++ „ „ üppig | aber deutlich
Die kleinen Zahlen sind Ordnungszahlen

I.

Ampulle 2 und 4 angelegten Kulturen am 20. II. 1914 (nach etwa 1 Monat)	
37 °	Zimmertemperatur
2 ₄ kleinste, dichtsitzende, matte Kolonien im oberen Teil mehr gelblich dgl.	2 ₆ + Getrennte Kolonien
4 ₂₀ dünne, zarte, matte, dichtsitzende kleinste Kolonien	4 ₂₃ dicht stehende, kleine bis reiskorngroße glänzende, leicht gelbliche Kolonien; eine fragliche Verunreinigung. (mikr. Staphylokokken)
2 ₁ trockener Belag von kleineren, dichtsitzenden Kolonien	
2 ₁ ++ matt, trocken, mit Knöpfen (sekundären Kolonien)	2 ₈ +++ glänzend, leicht gelblich, fast wie Kokken; aber mikroskopisch: säurefeste Stäbchen
2 ₂ + + +, Hochkriechen an der Glaswand. Abimpfungsstelle noch erkennbar	
4 ₁₈ zusammenhängender weißer, ziemlich trockener Belag	4 ₁₉ ganz wie 2 ₈
2 ₁₆ } Angaben fehlen im Protokolle 4 ₃₂ } (nachträglich nicht mehr festzustellen)	
2 ₈ 2 größere und 2 kleinere, streptothrixartige trockene Kolonien. Mikr. säurefeste Stäbchen	2 ₈ weißglänzende größere und kleinere, teilweise zusammengeschlossene Kolonien. Die größeren stecknadelkopfgroß
4 ₂₈ hauptsächlich weiße, matte, etwas körnige Kolonien, daneben 7 punktförmige glänzende. Mikr. die letzteren säurefeste Stäbchen (diese Kolonien lassen sich im ganzen vom Nährboden abheben)	4 ₄ wie 2 ₈
	2 ₁₀ + + + gelblich-weiß
4 ₂₆ stark faltiger dicker, gekräuselter Belag. Starkes Hochkriechen an der Glaswand	4 ₃₆ dick, weißlich, saftig
	2 ₁₂ durch Eindeckung dunkler gefärbte Haut. Hochkriechen an der Glaswand
	4 ₂₇ } +. Bazillenmassen am Boden des 2 ₂₈ } Röhrchens (macht den Eindruck, als ob wieder zusammengefloßen)
2 ₁₈ aller Belag untergesunken, Flüssigkeit ganz klar	
4 ₂₉ einige faltige Häutchen, schwimmend. An Glaswand angetrocknete Häutchen mehr gelblich	4 ₃₀ Belag zu Boden gesunken. B. klar
2 ₁₅ } Wurden, da auch nach 12 Ta- 4 ₃₁ } gen 0, während auf neu ange- gelegter B-Kultur schon üppiges Wachstum, entfernt	
± kaum Wachstum	0 kein Wachstum
? fragl. „	B = Bouillon
der einzelnen Kulturröhrchen.	
2 = a. Amp. 2 (schwache Em.) } be- 4 = a. Amp. 4 (starke Emuls.) } impft	

Aus den weiteren Beobachtungen an Kulturen sei folgendes mitgeteilt:

Die erste Kultur im Kölbchen auf Tuberkelbazillenbouillon, die am 19. I. 1918 aus dem Röhrchen 4 angelegt und bei 37° bebrütet wurde und dann zu den Impfungen der verschiedenen Tierarten am 31. I. diente, zeigte schon am 3. Tage deutliche Vermehrung. Es bildete sich zunächst eine dünne Haut, die sich bald faltete und an der Glaswand hochkroch. Nach etwa einer Woche hatte man das Bild einer üppig und typisch wachsenden humanen Tuberkelbazillenkultur vor sich, wie es aber bei den echten Tuberkelbazillen nur nach frühestens 3 bis 4 Wochen erhalten wird.

An dieser Kultur wurden u. a. die auf p. 289 mitgeteilten mikroskopischen Befunde erhoben.

Bei Zimmertemperatur bildet sich auch auf Bouillon eine mehr rahmige, allmählich an Dicke zunehmende Haut, von der bald Bazillenmassen zu Boden sinken.

Am 23. III. wurde aus dem Röhrchen 2, eine Kölbchenkultur angelegt. Diese zeigte erst nach etwa 8—10 Tagen beginnende Vermehrung, was wohl damit zu erklären ist, daß die Ausgangskultur inzwischen 2 Monate alt geworden war. Dann aber trat im Verlaufe weniger Tage ein dickes, faltig-wulstiges Wachstum mit auf Hochklettern an der Kölbchenwand ein, und die aus dieser Kultur am 12. III. angelegten weiteren Abimpfungen auf Bouillon vom 23. III. wiesen das oben beschriebene raschere Wachstum auf.

Bouillonkulturen, die am 19. VI. aus den Röhrchen 4₂₈ (Glyzerinagar bei Zimmertemperatur) und 2₁ (Glyzerinserum bei 37°) angelegt wurden, gingen nicht an. Die Ausgangskulturen waren allerdings schon 5 Monate alt.

Die Angaben Friedmanns über den aromatischen Geruch der Kulturen konnten wir bestätigen. Wenn er auch nicht die „feine Blume“ der echten Tuberkelbazillenkulturen zeigt, so steht er ihm doch recht nahe.

Die Art des Wachstums auf den gleichen Nährböden war eine wechselnde, je nach der Art des Nährbodens, von dem abgeimpft wurde, so daß man ohne Kenntnis dessen, daß es sich um den gleichen Stamm handelte, gezwungen worden wäre, an verschiedene Bakterienarten zu denken.

So zeigten von 3 Abimpfungen auf Tuberkelbazillenagar vom 23. VI. zwei einen mattglänzenden, wulstig-faltigen Belag mit Hochkriechen vom Kondenswasser aus, während der Kulturbelag im 3. Röhrchen glänzend weiß und im ganzen weniger üppig war. Die beiden ersten Röhrchen waren von Glyzerinserumkulturen, die bei Zimmertemperatur bzw. 37° gewachsen waren, abgeimpft, das letzte von Tuberkelbazillenagar, der bei Zimmertemperatur bebrütet worden war.

In einer Agarkultur, die auf Tabelle I unter 4₂₈ aufgeführt ist (Befund vom 20. II.), wurden Erscheinungen beobachtet, die entsprechend den von

Bärthlein und Tojoda bei Froschtuberkelbazillen erhobenen Befunden als Abspaltungserscheinungen gedeutet werden müssen. Neben weißen, matten, etwas gekörnten Kolonien fanden sich knopfartige, weißglänzende, mit glatter Oberfläche. Im mikroskopischen Bilde bestanden auch letztere aus säurefesten Stäbchen, die keine Besonderheit aufwiesen. Diesen Erscheinungen wurde nicht weiter nachgegangen. Es sei nur bemerkt, daß auch bei den im Verlaufe der Versuche herangezogenen Froschtuberkelbazillen von mir in Uebereinstimmung mit den Feststellungen von Bärthlein und Tojoda ähnliche Verhältnisse, nur in noch ausgesprochenerem Maße und größerer Häufigkeit, beobachtet wurden.

Betrachtet man das kulturelle Verhalten der Friedmannbazillen zusammenfassend, so ergibt sich, daß es sich weitgehend von dem echter Tuberkelbazillen unterscheidet. In erster Linie ist in dieser Hinsicht die Schnelligkeit des Wachstums anzuführen, dann die Fähigkeit, auch bei Zimmertemperatur zu gedeihen.

Auf den verschiedenen festen Nährböden haben wir Kulturen, die im äußeren Ansehen unbedingt für Tuberkelbazillenkulturen hätten gehalten werden müssen, so gut wie nie gesehen. Stets war der Belag mehr dicht zusammenhängend, warzig-wulstig, und hatte immer noch einen wenn auch matten Glanz. Jene trockenen, faltigen, und mit in die Höhe gewachsenen Höckern versehenen Beläge, wie sie für die Tuberkelbazillen so charakteristisch sind, kamen uns damals nicht zur Beobachtung¹⁾.

Durchaus wie Tuberkelbazillenkulturen des humanen Typus sehen aber, wie schon erwähnt, die Kulturen auf flüssigen Nährböden aus. Dieses Verhalten teilen die Friedmannbazillen jedoch mit allen denjenigen Säurefesten — und das dürfte die Mehrzahl sein — die reines Oberflächenwachstum zeigen. Von der Tatsache abgesehen, daß dieses tuberkelbazillengleiche Bild schon nach vergleichsmäßig ganz kurzer Zeit erhalten wird, besteht aber auch bei den Flüssigkeitskulturen insofern ein deutlicher Unterschied gegenüber echten Tuberkelbazillen, als sich die Belaghäute nach Entnahme eines Teiles oder nach Untersinken sehr bald wieder durch neuen Belag ergänzen.

1) Bei den Untersuchungen nach dem Kriege, wo die Kulturen in dem etwas höher, als dem im Jahre 1914 benutzten Brutschrank, temperierten Brutraum standen, sind häufiger völlig „typisch tuberkulöse“ Beläge zu beobachten gewesen.

Friedmann legt auf das Wachstum seiner Schildkröten-tuberkelbazillenstämme bei 37° einen ganz besonderen Wert und betrachtete es als ein Merkmal für die nahe Verwandtschaft zu den echten Tuberkelbazillen. Hierzu sei bemerkt, daß die überwiegende Mehrzahl von sicher durchaus saprophytischen Säurefesten, wie z. B. der Petrische Butterbacillus, sich ebenso verhält.

Von besonderem Interesse sind in dieser Hinsicht auch die Befunde von Weber und Tauts.

Von den 36 Stämmen Webers und Tauts zeigten sämtliche bei 30° noch gutes Wachstum, bei 35° wuchsen nur 2, bei 37° ein einziger. Dieser war aus der Leber eines Vorratsfrosches in Reinkultur gewonnen worden.

Bei 30° wuchs schon ein Teil der Stämme auf Glyzerinbouillon in Gestalt einer gefalteten, an der Kölbchenwand emporkletternden Haut, doch war dies Verhalten nur bei einigen Stämmen konstant, während bei anderen dazwischen wieder hier und da ein rahmiges Wachstum auftrat. Konstant zeigten ein trockenes faltiges Wachstum die beiden bei 35° und der bei 37° wachsende Stamm.

Das „humane“ Wachstum des Friedmannstammes bei 37° darf demnach nicht als Beweis für die nahen Beziehungen zu menschlicher Tuberkulose herangezogen werden.

Die Friedmannbazillenkulturen zeigen also im ganzen, ebenso wie die 36 Stämme Webers und Tauts, einen von der Art des Nährbodens und der Züchtungstemperatur und von der Angewöhnung abhängigen hochgradigen Polymorphismus. Man darf dieses Verhalten wohl als einen Ausdruck dafür auffassen, daß es sich nicht um eine festgewordene Art handelt.

Damit im Einklang stehen die Unterschiede zwischen den Friedmannstämmen I, II und III hinsichtlich Temperaturwerte und Verhalten im Tierkörper und die Beeinflussung des III. Stammes durch die jahrelange Fortzüchtung mit kürzesten Verimpfungszwischenräumen.

Wenn mehr oder weniger ähnliche Verhältnisse bei fast allen Bakterien bestehen, so sind sie im vorliegenden Falle doch besonders ausgeprägt. Schon die große Temperaturbreite allein spricht unseres Erachtens für eine mehr „saprophytische Natur“ im Gegensatz zu vielen an den Körper der Warmblüter angepaßten „Pathogenen“.

3. Das mikroskopische Verhalten des Mittels und der Reinkulturen.

In nach Ziehl (Differenzierung mit 3-proz. Salzsäurealkohol) gefärbten Ausstrichen aus den Ampullen 2 und 4 fanden sich mittellange, gerade oder leicht gebogene säurefeste Stäbchen, die ziemlich häufig an einem Ende leicht kolbig verdickt waren und ein dunkleres Körnchen aufwiesen.

(Bei Ampulle 4 waren im ersten Ausstrich einige den roten Stäbchen an Gestalt ganz gleiche, jedoch blau gefärbte Stäbchen vorhanden. Bei Wiederholung des Ausstriches mit besonders sorgfältiger und intensiver Färbung waren alle Stäbchen säurefest.)

Bei der Färbung nach Much (II. Methode) sind fast alle Stäbchen gleichmäßig durchgefärbt, nur einige wenige zeigen im blassen, kaum gefärbten Leib 1—2 dunkle Körnchen.

In den Ausstrichen aus dem Ampulleninhalt war von einer Verunreinigung nichts zu bemerken; man hat durchaus den Eindruck, eine Reinkultur vor sich zu haben.

Ueber die Beobachtungen an den Ausstrichen aus den verschiedenen Reinkulturen sei zusammenfassend berichtet. Irgendwelche Unterschiede zwischen den aus den beiden Ampullen gewonnenen Kulturen traten nicht auf.

Dagegen war eine fast durchgängige Verschiedenheit festzustellen, je nachdem die Bazillen auf glyzerinhaltigen oder glyzerinfreien Nährböden gewachsen waren.

Auf Glycerinserum oder Agar — und zwar gleichgültig, ob bei 37° oder 20° gewachsen — sieht man meist ziemlich lange, oft leicht gebogene oder gekrümmte Stäbchen, nur wenige davon kolbig verdickt oder mit Körnchen. Die auf glyzerinfreien Nährböden gezüchteten Stäbchen sind fast immer kürzer, mehr gerade und etwas dicker und zeigen außerdem in der Mehrzahl oder mindestens recht häufig 2 endständige Körnchen.

In gewöhnlicher Bouillon und auf Gelatine bei Zimmertemperatur sind die Einzelformen zart und dünn, die in Bouillon länger als die in Gelatine (vgl. die Bemerkung über die Friedmannsche Abbildung von Stamm I p. 279 unten).

Bei der Färbung nach Much fiel es auf, daß auch in solchen Ausstrichen eine homogene Färbung der ganzen Stäbchen ohne Körnchen vorlag, wo in gleichzeitig angefertigten, nach Ziel gefärbten, Parallelausstrichen deutliche und reichliche Körnchen zu sehen waren¹⁾. Die dunklen Körnchen

1) Steht im Einklang mit den Beobachtungen von Fitschen (23), s. Anm. p. 280.

der Friedmannbazillen bei Ziehlfärbung haben also mit den Muchschen Körnchen nichts zu tun.

Im Gegensatz dazu steht folgende Beobachtung.

In Ausstrichen aus einer 11 Tage alten, bei 37° bebrüteten Bouillonkultur (Tuberkelbazillenbouillon) finden sich nach Ziehlfärbung mittellange, manchmal leicht gebogene säurefeste Stäbchen, die öfters an einem Ende keulenförmig verdickt sind und nur Andeutung von Körnchen zeigen. Im nach Much gefärbten Parallelausstrich dagegen finden sich an einigen Stellen die Bazillen im ganzen dunkelblau gefärbt und größer erscheinend, während an dünneren Stellen des Ausstriches deutliche Körnelung, das Auftreten von Körnchenreihen mit oft ganz blassen Bazillenleibern zu bemerken ist¹⁾.

Aus dem geschilderten mikroskopischen Verhalten lassen sich nur geringe Unterschiede gegenüber den echten Tuberkelbazillen entnehmen. Am meisten wäre noch das Auftreten von Keulenformen schon in nur wenige Tage alten Kulturen heranzuziehen, und die meist homogene Färbung nach Much. Von durchgreifender Bedeutung sind aber diese Unterschiede natürlich nicht.

4. Tierversuche mit dem Originalmittel an Meerschweinchen und Kaninchen.

Mit dem Inhalte der am 14. XI. 1914 bezogenen Ampullen No. 2 „schwach“ und No. 4 „stark“ wurden sofort je 6 Meerschweinchen und Kaninchen geimpft.

Die Konzentration der Aufschwemmungen war damals nicht bekannt. Erst später erfuhren wir, daß No. 2 einer Aufschwemmung von 1:200, No. 4 einer solchen von 1:100 (in sterilisiertem Leitungswasser) entspricht. Für die Aufschwemmung 4 wurde von uns aus dem Grade der Trübung gleich eine Verdünnung 1:100 vermutet und dementsprechend die Dosierung vorgenommen.

Die Meerschweinchen wurden sämtlich subkutan, die Kaninchen alle in die Vene geimpft.

Da die Virulenz des Mittels geprüft werden sollte, wählten wir beim Kaninchen den Einverleibungsweg, auf dem bei Verwendung echter Tuberkelbazillen eine weit geringere Menge genügt, um typische Bilder in die Erscheinung treten zu lassen. Gibt man doch bekanntlich bei der Typenbestimmung den Kaninchen 0,00001 g Tuberkelbazillen intravenös gegenüber 0,01 g subkutan.

Für die Meerschweinchen andererseits ist es ja bekannt, daß durch die subkutane Impfung noch minimale Mengen von Tuberkelbazillen nachgewiesen werden können.

1) Eine Bestätigung der Piorkowskischen Angaben (vgl. p. 280) liefern unsere Befunde nicht.

Das Gewicht der Tiere wurde nicht besonders festgestellt. Bei allen Tieren handelte es sich um solche vom Mittelgewicht, das bei den Meerschweinchen etwa 300—400 g, bei den Kaninchen um 2000 g betrug.

Die Versuche sind in der folgenden Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

No.	No. der Ohrmarke	Erhält	Aus Ampulle	Bazillen	Lebte Tage nach der Infektion	Ergebnis
A. Meerschweinchen, am 14. I. 1914 subkutan infiziert.						
1	2066	0,2 ccm (2,0 ccm d. Verd. 1 : 10)	No. 2	0,001 g	201 get.	Völlig normal.
2	2067	desgleichen	„ 2	0,001 g	201 get.	Desgleichen.
3	2073	0,2 ccm (1,0 ccm d. Verd. 1 : 5)	„ 4	0,002 g	92 get.	Keine tuberkulösen Veränderungen (s. Text).
4	2074	desgleichen	„ 4	0,002 g	201 get.	Völlig normal.
5	2075	0,1 ccm (0,5 ccm d. Verd. 1 : 5)	„ 4	0,001 g	196	Keine tuberkulösen Veränderungen (s. Text).
6	2076	desgleichen	„ 4	0,001 g	63	Desgleichen.
Weiterimpfungen:						
3a	2774	{ Milz subkutan a. Mw. 2073 = No. 3	—	—	107 get.	} Befund völlig normal.
3b	2775				107 get.	
B. Kaninchen, am 14. I. 1914 intravenös infiziert.						
1	2065	0,2 ccm (2,0 ccm d. Verd. 1 : 10)	No. 2	0,001 g	201 get.	Befund völlig normal.
2	2068	0,5 ccm (2,5 ccm d. Verd. 1 : 5)	„ 4	0,005 g	201 get.	Desgleichen.
3	2069	0,2 ccm (1,0 ccm d. Verd. 1 : 5)	„ 4	0,002 g	201 get.	„
4	2070	desgleichen	„ 4	0,002 g	201 get.	„
5	2071	0,1 ccm (0,5 ccm d. Verd. 1 : 5)	„ 4	0,001 g	201 get.	„
6	2072	desgleichen	„ 4	0,001 g	83	Stärkste Seuche in Brust- und Bauchhöhle. Keine tuberk. Veränderungen.

Von den 5 Meerschweinchen verendete als erstes Tier No. 6 nach 63 Tagen. Es hatte am vorhergehenden Tage 2 tote Junge geworfen, und zeigte bei der Sektion beginnende Seuche in der Bauchhöhle. Beide Uterushörner hyperämisch. Organe sämtlich frei von tuberkulösen Veränderungen¹⁾.

Dieses Tier fällt für die Beurteilung, da interkurrent gestorben, aus; immerhin ist das Freisein der Organe von tuberkelartigen Knoten bemerkenswert.

Tier No. 3 wurde am 18. IV. 1914 im Hinblick auf eine am 20. IV. 1914 festgesetzte Kommissionssitzung getötet. Die Sektion ergab völlig normalen Befund. Nichtsdestoweniger wurde die Milz subkutan auf die beiden Tiere 3a und 3b verimpft. Beide Tiere erwiesen sich bei der am 4. VIII. 1914 am 107. Tage nach der Infektion erfolgten Tötung als ganz frei von kranhaften Veränderungen.

Aus den Organen des Tieres No. 3 (Kniefaltendrüsen, die nicht vergrößert waren, Lunge, Leber, Milz) wurden Ausstriche auf Glycerinagar und Serum angelegt und bei 37° bebrütet.

Während die Leberausstriche sowohl auf Serum wie auf Agar und die Milzausstriche auf Agar steril blieben, wuchsen aus der Milz auf Serum zitronen- und goldgelbe Kolonien (*Staphyl. citreus* und *aureus*), aus den Drüsen auf Agar und Serum nur *Staphylococcus aureus*, aus der Lunge auf beiden Nährboden nur *Coli* aus.

Den letzten Befund kann man sich unschwer durch Aspiration bei der Tötung erklären. (Inwieweit der überraschende Befund der Kokken mit einer Verunreinigung des Mittels zusammenhängt, mag dahingestellt bleiben. Wie aus Tabelle I zu ersehen, war aus Ampulle 4 auf Serum bei Zimmertemperatur eine gelbe Kokkenkolonie aufgegangen.)

Von Wichtigkeit für unsere Frage ist nur, daß sich säurefeste Bazillen nicht nachweisen ließen und daß irgendwelche auch nur tuberkuloseverdächtigen Erscheinungen an dem Tiere nicht festgestellt werden konnten. (Daß die kulturell nachgewiesenen Kokken im Tier ein völlig saprophytisches Dasein geführt haben, geht auch aus der Tatsache hervor, daß die beiden mit Milz weitergeimpften Tiere ganz gesund blieben.)

Das nach 196 Tagen am 29. VII. 1914 spontan verendete Tier No. 5 wurde während meines Urlaubs seziert. Im Protokoll findet sich nur die Angabe: Tuberkulose makroskopisch und mikroskopisch negativ.

Die drei übrigen Tiere No. 1, 2 und 4 erwiesen sich bei der am 4. VIII. 1914 (nach Kriegsbeginn!) 6½ Monate nach der Impfung vorgenommenen Schlachtung völlig frei von Tuberkulose.

Als Ergebnis dieser Meerschweinchenreihe muß ausgesprochen werden, daß das Friedmann-

¹⁾ Eine mikroskopische Untersuchung auf säurefeste Bazillen wurde auf Grund der Befunde an den weiter unten zu erwähnenden, mit Rein-kulturen infizierten Meerschweinchen No. 8, 7 und 9, die nach bzw. 17, 25 und 46 Tagen untersucht wurden (vgl. p. 293, 295/96), unterlassen.

sche Mittel in Gaben von 1 und 2 mg, die bei echten Tuberkelbazillen in 4—8 Wochen zum Tode geführt hätten, bei subkutaner Verimpfung völlig unschädlich für diese Tiere war.

Von den 6 Kaninchen ging Tier No. 6 am 7. III. 1914 nach 83 Tagen spontan an stärkster Seuche ein. Von tuberkulösen Veränderungen ließ sich, soweit die enorme Seuche überhaupt ein Urteil gestattete, nichts feststellen.

Alle übrigen Tiere boten bei der Tötung am 4. VIII. 1914, 201 Tage = $6\frac{1}{2}$ Monate nach der Impfung, einen völlig normalen Befund dar.

Ergebnis der Kaninchenimpfung: Auf die intravenöse Impfung von 1, 2 und 5 mg Friedmannbazillen, in Form der Originalaufschwemmungen, traten bei keinem von 6 Kaninchen irgendwelche tuberkulösen Organveränderungen auf.

5. Tierversuche mit aus dem Mittel herausgezüchteten Reinkulturen.

A. Meerschweinchen.

Als Impfmateriale diente, wie bei den quantitativen Tuberkelbazillenimpfungen gebräuchlich, der Belag von Bouillonkulturen (Tuberkelbazillenbouillon).

Zu der am 30. I. 1914 angesetzten 1. Reihe der mit Reinkultur geimpften Tiere wurde eine 11 Tage alte Bouillonkultur, zu der am 11. V. angesetzten 2. Reihe eine 16 Tage alte Bouillonkultur verwendet.

Im Vergleich mit den bei der Prüfung der Originalaufschwemmungen angewandten Dosen waren die nunmehr verimpften Mengen größere.

Sie betrugen bei 2 Tieren der ersten Reihe 10 mg und bei allen 6 Tieren der zweiten Reihe 10—20 mg. Auch wurde neben der subkutanen die intraperitoneale Impfung herangezogen.

Von den 6 am 30. I. 1914 geimpften Meerschweinchen sind nicht weniger als 5 spontan in Zeiträumen zwischen 17 und 116 Tagen verendet.

Das schon nach 17 Tagen gestorbene Tier No. 8 bot folgenden Sektionsbefund dar: Impfstelle geschlossen, an Bauchwand weder Schwellung noch Rötung zu bemerken. Kniefaltendrüsen beiderseits kaum vergrößert, nicht verkäst. Milz kaum vergrößert, etwas körnig und leicht hyperämisch, d. h. etwas dunkler gefärbt. Leber ohne makroskopische Veränderungen.

7 2231	30. I. 1914	0,01 g	subk.	24. II. 1914	—	25 ohne Befund
8 2228	dgl.	0,001 g	"	16. II. 1914	—	17 Frei von tuberkulösen Veränderungen. Seuche
9 2229	"	0,01 g	intrap.	17. III. 1914	—	46 Seuche. Pseudotuberkulose
10 2230	"	0,001 g	"	26. V. 1914	—	116 Sepsis
11 2226	"	"	"	23. II. 1914	—	24 Seuche
12 2227	"	"	"	—	—	186 Völlig normal

	11. V. 1914	0,02 g	subk.		4. VIII. 1914	85	Völlig normal
133061	dgl.	0,01 g	"	—	18. V. 1914	7	An Impfstelle kleinbohnengroßer Knoten, sonst ohne Befund
143062	"	"	"	—	25. V. 1914	14	An Impfstelle kleinsengroße Verdickung, sonst o. Befund
153063	"	"	"	—	4. VIII. 1914	85	Völlig normal
163064	"	"	"	—	dgl.	85	"
173065	"	"	"	—	"	85	"
183066	"	0,02 g	intrap.	—	"	85	"

19 3067	11. V. 1914	0,02 g	subk.	—	4. VIII. 1914	85	Völlig normal
20 3068	dgl.	0,01 g	"	—	18. V. 1914	7	An Impfstelle strangförmige Verdickung, sonst o. Befund
21 3069	"	"	"	—	4. VIII. 1914	85	Völlig normal
22 3070	"	0,02 g	intrap.	—	dgl.	85	" "

72332	11. V. 1914	0,01 g	intrav.	4. VIII. 1914	186	Völlig normal
82233	dgl.	—	—	dgl.	186	"
92234	"	0,08 g	" subk. Bauch subk. Rücken	"	186	"
102235	"	"	—	"	186	An der Impfstelle ein pfaumengroßes Infiltrat; innere Organe völlig normal

Die Lungen zeigen in beiden Oberlappen pneumonische, dunkel verfärbte Herde. Der linke Unterlappen ganz frei, im rechten einige kleine verwaschene Herde, die nicht wie Tuberkel aussehen. Herz stark ausgedehnt.

Mikroskopisch ließen sich in keiner der Drüsen und in keinem der inneren Organe säurefeste Stäbchen nachweisen; dagegen fanden sich in den Ausstrichen aus der Lunge massenhaft kokkenartige kleinste Doppelstäbchen. Von den Verimpfungen auf sauren Glycerinagar blieben die Ausstriche aus der Leber steril; aus Lunge, Milz (!) und Herzblut wuchsen gram-negative feinste Doppelstäbchen.

Nach dem ganzen Befund besteht volle Sicherheit, daß das Tier einer Seuche erlegen ist, deren tödlicher Ausgang vielleicht durch die Impfung beschleunigt wurde (vgl. unten).

Auch das nächste 24 Tage nach der Impfung gestorbene Tier No. 11 gehört zu diesen Seuchenfällen. Sektionsbefund: Die rechte Kniefalten- und Achseldrüse sind etwas geschwollen und leicht blutig verfärbt, die Blutgefäße in der Umgebung erweitert. Leber von einem leicht abziehbaren Fibrinbelag überzogen, Milz mit der Umgebung verwachsen und in Fibrinmassen eingebettet. In der Milz ziemlich zahlreiche bis stecknadelkopfgröße — auch ein linsengroßes — gelbweiße, über die Oberfläche hervorragende Knötchen. Lungen ohne Befund. Etwas Peritonealexsudat.

Mikroskopisch findet sich in Ausstrichen aus der Milz reichlicher Zell- und Kernzerfall, von säurefesten Stäbchen nichts zu sehen, doch reichlich feine Doppelstäbchen und auch vereinzelte feine blaue Stäbchen.

Von einer Züchtung und Weiterimpfung wurde angesichts des einwandfreien Seuchenbefundes abgesehen.

Das am nächsten Tage eingegangene Tier No. 7 bot folgenden Sektionsbefund dar:

Ort der Einspritzung nicht mehr feststellbar (obwohl das Tier 10 mg! subkutan erhalten hatte). Keine deutliche Drüsenschwellung, höchstens linke Kniefaltendrüse ganz leicht vergrößert. Leber o. B., Milz nicht vergrößert. Kaum sichtbare punktförmige graue Knötchen, die ebensowohl die etwas stärker hervortretenden Milzfollikel sein können. In der Lunge ganz wenige, ganz unverdächtige Stellen, wie sie auch bei normalen Tieren vorkommen. Im ganzen also kein faßbarer Befund. Mikroskopisch nirgends säurefeste Stäbchen zu finden. Im Milzausstrichpräparat in einigen Zellen Kernzerfall, so daß kokkenartige Bilder entstehen. Aus dem Herzblut des Tieres wuchsen auf Agar coliiartige Kolonien, die bei weiterer Untersuchung als Coli festgestellt wurden.

Bei dem am 17. III. 1914, 46 Tage nach der Infektion, gestorbenen Tiere No. 9 war ebenfalls beginnende Seuche vorhanden. In Leber und Milz je ein stecknadelkopfgroßer Herd; namentlich der Milzherd war makroskopisch von tuberkulösen Herden nicht zu unterscheiden. Lunge und Drüsen ohne Befund.

Mikroskopisch im Leber- und Milzherd keine säurefesten Stäbchen nachweisbar, dagegen in beiden Ausstrichen dünne

blaue Kurzstäbchen zu finden, die im Leberherd zwischen Detritusmassen liegen, während im Milzherdausstrich die Zellen gut erhalten sind.

Auf den angelegten Kulturen aus Leber und Milz wuchsen auf sämtlichen Röhrchen reichlich coliartige Kolonien aus, die sich mikroskopisch als aus feinsten gram-negativen diplokokkenartigen Kurzstäbchen bestehend erwiesen.

Bei dem Tier No. 9 haben wir es also mit einem typischen Fall von Pseudotuberkulose mäßigen Grades zu tun.

Eine Weiterimpfung wurde, wie bei der Niederschrift mit Bedauern bemerkt wurde, unterlassen. Es ist jedoch nach reichlichen inzwischen gesammelten Erfahrungen nicht zu bezweifeln, daß sie das Bild der Pseudotuberkulose in noch ausgeprägterer Weise ergeben hätte.

Jedenfalls ist man angesichts des eindeutigen mikroskopischen wie kulturellen Befundes nicht berechtigt, die bei Tier No. 9 vorgefundenen Organveränderungen auf die Wirkung der einverleibten Friedmannbazillen zurückzuführen.

Tier No. 10 ging 116 Tage nach der Impfung ein. Die Sektion ergab das Vorliegen einer akuten hochgradigen Sepsis. Bauchdecken verhärtet, Dünndärme teilweise leuchtend orangerot. Milz etwa 4mal vergrößert; in der Bauchhöhle alles verwachsen, ganze Lunge zersetzt und alles von Blut durchtränkt.

Von einer weiteren Verarbeitung des Tieres wurde abgesehen. Tier No. 12, das letzte der 6 Tiere dieser Reihe, wurde Anfang August getötet und erwies sich als völlig normal.

Bei dieser ersten Versuchsreihe mit Reinkultur ist das Ergebnis durch die interkurrenten Seuchentodesfälle sehr beeinträchtigt worden. Nun findet sich auch bei den Autoren, die mit anderen säurefesten Stämmen, wie den Milch-, Butter- und Timotheebazillen gearbeitet haben, die Angabe, daß sie große Tierverluste durch Seuche hatten, z. B. Klemperer (59), ferner Lindner (78), der 6 von seinen 10 Tieren durch „Diplokokkensepsis“ verlor. Auch Boehncke-Ehrlich (22) gibt 40 Proz. Verlust durch Seuche an.

Man wird hierdurch zur Vermutung geführt, daß der Ausbruch der Seuche durch die Friedmannimpfung begünstigt wird (vgl. p. 298).

Es besteht kein Zweifel, daß die sogenannte „Meerschweinchen-seuche“ durch verschiedene Bakterien hervorgerufen werden kann. (Früher fanden wir häufig Pneumokokken.) Eine dieser Bakterienarten erzeugt an den Organen der Tiere Veränderungen, die als makroskopisch äußerst tuberkuloseähnlich zu bezeichnen sind, so daß man direkt von Pseudotuberkulosebazillen spricht (Saisawa, 104)¹.

1) Im Gesundheitsamt hat Joetten neuerdings seine Aufmerksamkeit

Für unsere Versuche ist das Hereinspielen derartiger Infektionen von besonderer Bedeutung.

So sei besonders betont, daß an den vorzeitig eingegangenen Tieren, namentlich bei Tier No. 11, tuberkuloseähnliche und zum Teil recht verdächtige Knötchen in einzelnen Organen gefunden wurden. Diese Erscheinungen boten unseres Erachtens bei wenig kritischer Betrachtung eine große Gefahr, sie in ursächlichen Zusammenhang mit der Impfung zu bringen. Die mikroskopische und vor allem die kulturelle Weiterverfolgung lieferte aber den Beweis, daß hier nichts anderes als Pseudotuberkulose mit ihren bekannten Erregern vorlag.

Ueber Beobachtungen, daß auch durch Paratyphus B-Bazillen beim Meerschweinchen Krankheitsbilder vorkommen können, die makroskopisch einer Tuberkulose gleichen, berichten neuerdings wieder Klopstock und Seligmann (65) und Köhler (69).

Es ist selbstverständlich, daß wir bei unseren Friedmann-tieren mit peinlichster Sorgfalt nach auch nur andeutungsweise tuberkuloseverdächtigen Veränderungen gesucht haben. Der Sektionsbefund von Tier No. 7 (p. 295) möge ein Beispiel dafür sein. Hätte man den gleichen Befund bei einem Tier erhoben, das zur Feststellung von echten Tuberkelbazillen mit einem tuberkuloseverdächtigen Material, z. B. Sputum, geimpft worden wäre, so hätte man keinen Augenblick gezweifelt, den Befund als glatt negativ zu bezeichnen¹⁾.

auf solche, zeitweise besonders gehäuft auftretende und in geradezu katastrophaler Weise die Tierversuche störende Fälle gewandt. Ueber seine Befunde, die von uns durchaus bestätigt werden konnten, wird er andernorts berichten.

1) Da wir zur damaligen Zeit schon seit Monaten mit Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbazillen im strömenden Blut beschäftigt waren und bei den zahlreichen zu dieser Arbeit verwendeten Tieren, von dem Gedanken an eine Virulenzabschwächung ausgehend, ebenfalls auf die geringsten nur eine Spur verdächtigen Erscheinungen achteten, hatten wir eine gewisse Erfahrung über die verschiedenen makroskopischen Bilder, die man bei oberflächlicher Betrachtung oder bei Unkenntnis dessen, was man auch bei normalen Tieren sehen kann, für tuberkulös verdächtig bezeichnen könnte. Bei den Blutuntersuchungen hatten wir uns zum Grundsatz gemacht, jede auch nur entfernt verdächtige Stelle auf weitere Tiere zu verimpfen. An dem überwiegend negativen Ausfalle dieser Weiterimpfungen konnten wir sehen, wie häufig sich solche „schwachverdächtige“ Veränderungen finden, die mit Tuberkulose nichts zu tun haben.

Jedem Bakteriologen sind Fälle von spontanem Eingehen von Meerschweinchen, namentlich auch von Versuchstieren bekannt, bei denen der Sektionsbefund nur als völlig negativ (das bekannte: ohne Befund) zu bezeichnen ist. (Vgl. hierzu das auf p. 275 Gesagte.)

Der Fall des Tieres No. 7 gehört auch gewissermaßen hierher und er könnte mit seinem positiven Colibefund im Herzblut vielleicht eine gewisse Stütze für Nahrungs- bzw. Darmtraktusschäden abgeben, auf die bei derartigen Fällen, wie erwähnt, unser Verdacht hingelenkt wurde.

Wo wir stärker tuberkuloseähnliche Befunde erhoben, haben wir, um es zu wiederholen, nach unseren mikroskopischen und kulturellen Befunden nicht den geringsten Zweifel, daß hier nicht die Friedmannbazillen das ätiologische Moment abgeben oder höchstens in der geschilderten „indirekten“ Weise.

Man kann den Verdacht nur schwer unterdrücken, es möchten vielleicht doch in dem oder jenem Falle von angeblicher Knötchenbildung durch den Friedmannbazillus auch jene anderen Erreger mit im Spiel gewesen sein¹⁾.

Betrachtet man das Ergebnis der 1. Reihe darauf hin, ob nicht doch vielleicht mittelbare Zusammenhänge zwischen Impfung und Tod der Tiere bestanden haben können, so ist also, wie erwähnt, daran zu denken, daß die Friedmannimpfung bei den Tieren die Bereitschaft zum Ausbruche der Seuche gesteigert hat. Das wäre aber auch das einzige, was gefolgert werden kann, da im übrigen sinn-gemäße Beziehungen zwischen Größe der Infektionsdosis und Zeitpunkt des Todes²⁾ nicht bestehen.

1) Gerade für die erste Boehnckesche Meerschweinchenreihe trifft, wie wir gestehen müssen, dieser Verdacht zu. Bei einigen der Tiere, z. B. 246 und 747 mit ihren vereinzelt Knötchen, ist es, soweit die Boehnckeschen Angaben vorliegen, doch nicht als ganz ausgeschlossen zu betrachten, daß beginnende Pseudotuberkulose vorlag. Wie unsere Befunde dartun, braucht es ja durchaus nicht immer zum Bilde der ausgesprochensten, hochgradigsten Seuche zu kommen. Und die gramnegativen, bei Ziehl blauen Seucheerreger sind so fein und klein, daß man sie, namentlich wenn im übrigen „Detritus“ vorliegt, doch unter Umständen übersehen konnte.

2) Ob man gerade für die Friedmannbazillen solche „sinn-gemäße Beziehungen“ fordern darf, erscheint allerdings einigermaßen fraglich. Aber durch die Unsicherheit und Regellosigkeit ihres pathogenen Verhaltens — und das bei erheblichen Impfdosen! — wenn man ein solches an-

So starb bei den subkutan geimpften Tieren das mit 10 mg infizierte Tier No. 7 zeitlich so ziemlich in der Mitte zwischen den beiden Tieren No. 8 und 9, die nur je 1 mg erhalten hatten, und zeigte auch nur einen äußerst geringen Grad von Organveränderungen.

Würde man angesichts dieses Befundes an eine Toxinwirkung denken, so müßte man für eine solche erst recht quantitative Beziehungen fordern müssen.

An solchen fehlt es aber, und zwar nicht nur bei den subkutan, sondern noch mehr bei den intraperitoneal gespritzten Tieren. Bei den letzteren darf nicht daran vorübergegangen werden, daß sich bei den beiden Tieren No. 10 und No. 11 fibrinöse Verwachsungen in der Bauchhöhle fanden. Für ihr Entstehen könnte eine Reizung des Peritoneums durch die eingebrachten Friedmannbazillen angenommen werden. Aber auch für diese Annahme bleibt es schwer verständlich, daß das mit 1 mg geimpfte Tier No. 11 3 Monate früher als das mit der 10-fachen Menge gespritzte Tier No. 10 unter den Folgen dieser erhöhten Reizbarkeit eingegangen sein soll.

Jedenfalls darf von einem unmittelbaren Zusammenhang der Todesfälle mit den Impfungen nicht gesprochen werden.

Unsere erste Meerschweinchenreihe fiel in die ungünstigste Jahreszeit, in der alle diejenigen, die mit vielen Versuchstieren, besonders Meerschweinchen, zu tun haben, unter den so häufigen interkurrenten Erkrankungen ihrer Versuchstiere zu leiden haben.

Bei der 2. Reihe der mit Reinkultur gespritzten Meerschweinchen No. 13—18, die in günstigere Jahreszeit fiel, waren denn auch, obwohl durchweg höhere Dosen gegeben wurden, keine Ausfälle an Tieren zu verzeichnen.

Bei dieser 2. Reihe wurden ebenso wie aus der gleich zu erwähnenden 3. Reihe 2 Tiere nach 7 bzw. 14 Tagen getötet, um etwaige rasch auftretende und im Verlaufe von mehreren Wochen wieder verschwindende Veränderungen festzustellen.

Daß die Infektionsdosen höher genommen wurden, als bei der 1. Reihe, ist schon erwähnt.

Gleichzeitig und parallel wurden in einer 3. Reihe 4 Tiere mit Froschtuberkelbazillen infiziert, die aus gleichalten Kulturen auf gleichartige Bouillon überimpft gleichlange Zeit, jedoch — da sie bei 37° nicht wuchsen — bei Zimmertemperatur gezüchtet worden waren.

nehmen wollte, unterscheiden sie sich dann eben von den echten Tuberkelbazillen, bei denen derartige Schwankungen nur bei Verimpfung minimaler Dosen eintreten, grundlegend.

Das nach 7 Tagen getötete Tier No. 14 der 2. Reihe ergab folgenden Sektionsbefund:

An der Impfstelle ein kleinbohnen großer Knoten, der mit käsigen Massen gefüllt war. Die Leistendrüsen beiderseits kaum vergrößert. Im übrigen Organbefund völlig normal. Mikroskopisch im Impfabseß reichlich säurefeste Stäbchen in Nestern und einzeln liegend, mit beginnenden Zerfallerscheinungen; die meisten Bazillen phagozytiert. In beiden Leistendrüsen (!); Milz, Leber und Lunge keine säurefesten Stäbchen¹⁾. Aus der Impfstelle und den erwähnten Drüsen und inneren Organen wurden Kulturen auf Glycerinserum, alkalischem und saurem Glycerinagar angelegt. Alle Kulturen blieben steril, mit Ausnahme des mit Material von der Impfstelle beschickten Glycerinserumröhrchen, auf welchem sich erst nach mehr als 6 Wochen (!), nachdem das Röhrchen auf Zimmertemperatur gestellt worden war, zahlreiche weißglänzende Kolonien entwickelten, die mikroskopisch aus säurefesten Stäbchen bestanden²⁾.

1) Auch eine erneute besonders vorsichtige Durchmusterung der noch vorhandenen Objektträger-Organusstriche ergab ebenso wie bei Tier No. 15 s. u. einzig und allein bei dem Impfstellenausstrich das Vorhandensein säurefester Stäbchen.

2) Diese Kultur fand sich bei der Niederschrift dieser Arbeit noch vor. Sie war während der ganzen Jahre, mit Paraffin verschlossen, zu hinterst in einem tiefen Schranke gestanden, also vor Lichteinfluß fast völlig geschützt. Die weißlichen knopfartigen Kolonien hatten im Innern eine ziemlich weiche Konsistenz. Die auf die Oese gebrachten Massen knistern beim Abglühen (Wachshülle!). Im mikroskopischen Bild fanden sich zarte, nach Ziehl schwach rosa gefärbte Stäbchen mit sehr deutlich erkennbaren dunkelroten Körnchen.

Die Weiterimpfung auf Glycerinserum, bei Zimmertemperatur gehalten, ging, nach 6 Jahren (!), noch an. Der Stamm wächst jetzt wieder auf allen Nährböden in gleicher Art und Ueppigkeit wie damals, auch bei 37°.

Bei Weber und Taute (122) findet sich auf S. 165 die Angabe, daß *Terre* seinen Fischtuberkulosebazillus noch nach 5 Jahren mit Erfolg überimpfen konnte.

Für echte Tuberkelbazillen ist eine derartige lange Lebensfähigkeit auf künstlichen Nährböden nicht bekannt.

Nach Weber (120), der hierin über die ausgedehnteste Erfahrung verfügen dürfte, betrug bei Paraffinverschluß die längste Uebertragbarkeit des Typus *humanus* 11, des Typus *bovinus* 20 Monate = 1 Jahr 8 Monate, bei zugeschmolzenen Kulturröhrchen steigen die betreffenden Zahlen auf 12 bzw. 20 Monate an.

Dieser enorme Unterschied zwischen *Friedmann*-Bazillen einer- und den Tuberkelbazillen andererseits spricht unseres Erachtens ebenfalls gegen eine nahe Verwandtschaft

Material von der Impfstelle, an der das massenhafte Vorkommen der Friedmannbazillen beinahe den Verdacht einer Vermehrung hervorrufen konnte, wurde am 18. V. 1914 auf 2 Meerschweinchen, 15a und b (3181 und 3182), subkutan verimpft. Beide Tiere ergaben bei der am 4. VIII. 1914 nach 71 Tagen erfolgten Tötung völlig normalen Befund.

Eine Verbreitung der Bazillen im Körper hat sich also nicht nachweisen lassen¹⁾.

und weist die Friedmannbazillen ganz nach der Seite der Kaltblütertuberkelbazillen hin.

(Von nicht säurefesten Bazillen — von den Sporenbildnern natürlich abgesehen — dürften sich die Pestbazillen am längsten in Kulturen übertragungsfähig erhalten, so nach N. K. Schultz 4 Jahre in Bouillon und nach Uriate 4 $\frac{1}{2}$ Jahre auf festem Nährboden, s. Dieudonné und Otto (19)!))

Auch neuere Beobachtungen haben in Uebereinstimmung mit den damaligen Züchtungsbefunden bei Tier No. 14 und 15 ergeben, daß die Friedmannbazillen aus tierischen Organen am sichersten auf Serum-, hauptsächlich Glycerinserum-Nährböden, herauszuzüchten sind, wogegen Glycerinagar versagte.

Ob bei der Kultur, die sich nach fast 6 Jahren noch lebend und übertragungsfähig erwies, das mitübertragene tierische Gewebe (die käsig-eitrigen Massen an der Impfstelle) von Einfluß war, läßt sich schwer sagen. Jedenfalls halten sich die Bazillen an der Impfstelle am längsten. Das dürfte mit dem Mangel oder der geringen Menge von lösenden Fermenten zusammenhängen.

In den Organen Leber und Milz, die schon physiologisch eine Resorptions- und Auf- und Umbaurolle, wozu eben zunächst „Abbau“ gehört, spielen, unterliegen die Bazillen einem rascheren Zerfall. Dagegen in den reinen Sekretionsorganen, Milchdrüse, Hoden, Samenblasen, wo zum mindesten keine lipolytischen Fermente anzunehmen sind, halten sie sich länger. Diese „Theorie“ würde ein gewisses Licht auf den „Menschenfall“ Schmitz-Fromme, aber auch auf den Befund von Orth am Meerschweinchen 7 (s. p. 257) werfen.

Inwieweit in den betreffenden Organen auch chemisch besonders zusagende Bedingungen vorhanden sind (Lipoidreichtum!), mag zunächst nur angedeutet sein. Man wird auch sofort sehen, welche theoretischen Ausblicke sich hinsichtlich Eutertuberkulose und dem Zusammenhang zwischen Schwangerschaft und Tuberkulose — zunächst allerdings noch vom grauen Nebel der Theorie beeinträchtigt — eröffnen.

In diesem Zusammenhange sei noch folgendes erwähnt: Barnes (6) fiel es auf, daß unter 83 behandelten Männern nur 4 = etwa 5 Proz., dagegen unter 47 Frauen 24 = etwa 51 Proz., also 10mal so viele Impfabszesse bekamen.

1) Der alleinige Befund der Friedmannbazillen an der Impfstelle, und zwar schon nach 7 Tagen — und ebenso nach 14 Tagen, s. Tier

Bei dem 14 Tage nach der Infektion getöteten Tiere No. 15 war der makroskopische Befund ein noch spärlicherer.

Die Einspritzungsstelle war kaum mehr zu finden, nur eine kleinlinsengroße Verdickung im Unterhautzellgewebe, ohne jede Eiteransammlung, wies auf sie hin. Der übrige Befund war völlig normal.

Von den Organausstrichen aus Milz, Lunge, Leber und Nieren enthielt keiner säurefeste Stäbchen. Im Ausstrich von der Impfstelle fanden sich dagegen massenhafte säurefeste Stäbchen, von denen sehr viele frei lagen. Durch das Fehlen von Leukozyten waren keine Phagozytoseerscheinungen aufgetreten.

Bei diesem Tier müssen die eingebrachten Bazillen nicht einmal als genügender Reiz zur Eiterung gedient haben. An den Zellen fällt die guterhaltene Form auf, im Gegensatz zum Befunde der Verkäsung beim Tier No. 14.

Die Verimpfung von Impfstelle und Organen auf Nährböden erfolgte wie bei Tier No. 14. Auch hier blieben alle Kulturen steril, bis auf eine Glycerinserumkultur aus der Impfstelle, auf der sich nach etwa 5 Wochen eine einzige verdächtige Kolonie vorfand, die sich mikroskopisch als aus Säurefesten bestehend erwies.

Also ist auch bei diesem Tiere der Nachweis der Bazillen nur an der Impfstelle zu erbringen gewesen. — Die übrigen vier Tiere der 2. Reihe (No. 13, 16—18) erwiesen sich bei der nach 85 Tagen = fast 3 Monaten erfolgten Tötung als völlig normal.

No. 15 — scheint mir auch nach inzwischen ad hoc angestellten neueren Versuchen zu den „regulären“ zu gehören.

Boehncke (22) konnte bei dem Meerschweinchen No. 244 am 23. Tag „im Quetschpräparat aus einer erbsengroßen Drüse an der Injektionsstelle“ zahlreiche schlanke säurefeste Stäbchen nachweisen. Es ist nicht ohne weiteres verständlich, wie an die Injektionsstelle eine „Drüse“ hinkommt oder umgekehrt. Falls die Injektion unmittelbar in die Kniefalte gemacht wurde, wäre der Befund erklärlich. Das Tier war mit 5 mg subkutan geimpft worden.

Lindner (78) machte bei seinen Einspritzungen von Timotheebazillen eine der unseren ähnliche Beobachtung. Nur bei den 2—4 Tage nach der Infektion (subkutan bis intraperitoneal) gestorbenen Tieren gelang der mikroskopische Nachweis säurefester Stäbchen, aber nicht mehr bei 2 am 11. und 27. Tage gestorbenen und bei den später getöteten Tieren.

Bei dem bekannten einen, mit 2 mg Kultur subkutan geimpften Meerschweinchen von Rubinowitsch (100), mit der „individuellen Disposition“, gelang sogar nach 3 Monaten noch der mikroskopische und kulturelle Nachweis der Friedmannbazillen aus Impfstelle und Organen. Das Tier ist auch hiernach als singuläre Ausnahme zu bezeichnen.

Eine mikroskopische Untersuchung und Züchtung konnte damals (am 4. VIII. 1914) aus äußeren Gründen nicht ausgeführt werden. Bemerkenswert erscheint dieser völlig negative Befund besonders bei Tier No. 18, das 20 mg intraperitoneal erhalten hatte.

Die ganze 2. Reihe ergab demnach eindeutig, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen nichts von irgendeiner pathogenen Wirkung der Friedmannbazillen auf die Meerschweinchen festzustellen war.

Aus der 3. (Vergleichs-)Reihe ist Tier No. 20 das Gegenstück zu Tier No. 14 der 2. Reihe. Bei der Tötung nach 7 Tagen fand sich an der Impfstelle ein Strang von 1,5 cm Länge und dem Umfang etwa eines dünnen Taschenbleistiftes vor, der mit käsigem Eiter erfüllt war. Drüsen und innere Organe völlig normal. Mikroskopisch wurden nur an der Impfstelle säurefeste Stäbchen gefunden. Die Züchtung blieb ohne Erfolg.

Von seinem Paralleltier No. 14 unterscheidet sich Tier No. 20 also nur dadurch, daß bei ihm auch aus der Impfstelle eine Züchtung nicht gelang. Die Froschbazillen mit ihrem wesentlich niedrigeren Temperatur-optimum sind eben auf die Verhältnisse im Warmblüter viel weniger eingestellt, als die bei 37° wachsenden Friedmannbazillen.

Die drei übrigen Tiere der Reihe 3, unter denen wieder Tier No. 22 — mit 20 mg intraperitoneal gespritzt — hervorgehoben zu werden verdient, waren bei der Tötung am 4. VIII. 1914, 85 Tage = fast 3 Monate nach der Impfung, alle völlig frei von irgendwelchen Organveränderungen.

B. Kaninchen.

Ueber die Befunde an den vier mit Reinkultur (11 Tage alter Bouillonkultur) infizierten Kaninchen No. 7—10 (siehe Tabelle III) kann rasch berichtet werden.

10 mg intravenös — während man zur Typenbestimmung $\frac{1}{100}$ mg Tuberkelbazillen gibt — und 80 mg subkutan gegeben, wurden glatt und ohne irgendwelche tuberkuloseartige Veränderung ertragen.

Daß bei Kaninchen No. 9 an der am Rücken befindlichen Impfstelle ein pflaumengroßes Infiltrat nach 186 Tagen vorhanden war, kann unseres Erachtens nicht als Ausdruck für eine pathogene Wirkung angesprochen werden. Der Befund steht mit vielen ähnlichen Feststellungen, bei der Verimpfung des für das Kaninchen nicht pathogenen humanen Typus, wonach sich ebenfalls häufig Abszesse am Rücken der entsprechend geimpften Tiere fanden, während die am Bauch mit der gleichen Dosis infizierten Tiere frei von derartigen Abszessen waren, in Uebereinstimmung und weist nur darauf hin, daß die Resorptionsverhältnisse am Rücken —

wohl auch infolge des Mangels der am Bauche stets mehr oder weniger vorhandenen „Massagewirkung“ — schlechtere sind.

Man kann also zusammenfassend sagen, daß sich auch bei Kaninchen keine pathogene Wirkung der Friedmannbazillen nachweisen ließ.

Dieser Befund steht mit den in der Literatur vorliegenden in Uebereinstimmung (s. I. Teil p. 276).

C. Weiße Mäuse.

Zur Verwendung gelangte die gleiche 11 Tage alte Tuberkelbazillenbouillonkultur, die auch zur Impfung der ersten Meer-schweinchenreihe gedient hatte. Mengen von 0,1 und 1,0 mg wurden subkutan und intraperitoneal verimpft (s. Tabelle IV).

Tabelle IV.
Verimpfung der Reinkultur auf Mäuse.
(11 Tage alte Bouillonkultur.)

No.	Bezeichnung	Tag der Impfung	Menge g	Art der Impfung	Tier gestorben	Lebte Tage nach der Impfung	Ergebnis
1	A weiß	30. I. 14	0,001	subk.	6. II. 14	7	Kokkeninfektion
2	A rot	dgl.	0,0001	„	18. III. 14	47	o. B.
3	B weiß	„	0,0001	„	18. II. 14	19	Interkurrent †. Keine tuberkulösen Veränderungen
4	B rot	„	0,001 +0,001	ip. subk.	wann? lebte Anfang August noch	> 181	Keine Angaben vorhanden
5	C weiß	„	0,0001	ip.	2. II. 14	3	Diplokokkeninfektion
6	C rot	„	0,0001	„	30. V. 14	119	Bluterguß in d. Bauchhöhle

Die erstgestorbene, intraperitoneal geimpfte, schon 3 Tage nach der Impfung eingegangene Maus No. 5 zeigte leicht vergrößerte, etwas dunkelbraunrot gefärbte Leistendrüsen; auf der Leber ein weißlicher Belag, die Milz deutlich vergrößert, doch ohne Knötchen, Lunge sehr blutreich.

Mikroskopischer Befund: Der Belag auf der Leber bestand aus einer Reinkultur von feinsten gramnegativen kokkenartigen Kurzstäbchen. Auch in der Leber die gleichen Formen in kleinen Häufchen zu sehen.

In mikroskopischen Ausstrichen, die nach Ziehl und nach Much gefärbt wurden, waren nirgends säurefeste Stäbchen zu finden. Im Ausstrich aus einer Leistendrüse an einer einzigen Stelle ein kleines Häufchen von kurzen, spießartigen, im Zerfall begriffenen roten Stäbchen. Bei ge-

nauer Einstellung bemerkt man, daß dieses Häufchen eine Spur höher als die ausgestrichene Gewebsschicht liegt, so daß der Befund nicht ganz einwandfrei ist.

In der Länge sehr reichlich mittellange, ziemlich dicke Stäbchen, gramnegativ.

Auf den aus den Organen angelegten Kulturen wachsen nur *Proteus*, *Coli* und die erwähnten feinen Kurzstäbchen.

Die Maus ist also einer Mischinfektion interkurrent erlegen. Es ist auffallend, daß nach so kurzer Zeit keine Friedmannbazillen mehr festzustellen waren, vom Befund in der Leistendrüse, der zudem nicht ganz sicher zu verwerten ist, abgesehen.

Daß die Mischinfektion mittelbar durch die Friedmannimpfung ausgelöst oder begünstigt wurde, ist nach Erfahrungen bei Impfungen von Mäusen mit anderen Infektionsstoffen, z. B. Trypanosomen, immerhin möglich. Von einer Ausbreitung oder einem Haften der Friedmannbazillen kann jedenfalls keine Rede sein.

Die nächstgestorbene Maus No. 1, die 7 Tage nach der subkutanen Impfung mit 1 mg einging, ergab folgenden Sektionsbefund:

Von Impfstelle nichts zu sehen, Leistendrüsen beiderseits etwas geschwellt, dunkel. Der ganze linke Leberlappen hellgelblich-nekrotisch, Milz deutlich vergrößert, im ganzen blaß, Lungen o. B.

In Leberausstrichen massenhaft feinste Kokken, zum Teil in größten Nestern, völliger Zellzerfall. Milz vereinzelte, nicht mit Sicherheit als solche feststellbare Kokken, da reichlicher Zellzerfall. Lunge sehr reichliche, feinste kleine Kokken, auch in Häufchen. Auch in den Leistendrüsen massenhaft feinste Kokken. Nirgends säurefeste Stäbchen zu finden.

Kulturell wurde außer den Kokken noch ein auf Drygalskiplatten blau wachsender, coliarziger Stamm isoliert, der jedoch mit keinem der in Betracht kommenden Sera (Ty, Paraty, Gärtner, Ruhr) eine Agglutination gab.

Wir haben also auch bei dieser Maus eine interkurrente Infektion mit Kokken vor uns, für deren mittelbaren Zusammenhang mit der Friedmannimpfung das soeben bei Maus 5 Gesagte gelten kann.

Auch bei der am 19. Tage eingegangenen Maus No. 3 lag eine interkurrente Infektion vor.

Sektionsbefund: Leber o. B., keine Knötchen, Milz leicht vergrößert, Lungen etwas hyperämisch. In mikroskopischen Ausstrichen nur in der Milz aller kleinste blaue Stäbchen zu sehen, nirgends säurefeste Gebilde.

Ausstriche von Milz, Lunge und Leber auf Drygalskiagar ließen überall Diplokokken, daneben aus Milz spärliche, aus Leber reichliche Colikolonien aufgehen.

Maus No. 2, die nach 17 Tagen einging, hatte ebenfalls einen ganz uncharakteristischen Sektionsbefund:

Drüsen kaum vergrößert, hell, Milz leicht vergrößert, aber ohne Knötchen, Lunge und Leber o. B. Mikroskopisch nirgends säurefeste Stäbchen, auch sonstige Bakterien nicht mit Sicherheit zu erkennen. Auf den Kulturen feine Kokkenkolonien gewachsen, die nicht weiter verfolgt wurden.

Maus No. 6 starb 119 Tage nach der Impfung.

Befund: Bluterguß in die Bauchhöhle. Leber fettreich, hell, ohne Knötchen, Milz etwa auf das Doppelte vergrößert, Lunge o. B. Mikroskopisch nirgendwo etwas von Bakterien zu sehen. Keine Kulturen angelegt.

In Anbetracht der langen, seit der Impfung verflossenen Zeit darf der intraperitoneale Bluterguß mit dieser wohl kaum in Verbindung gebracht werden.

Ueber Maus No. 4 fehlen in meinen Aufzeichnungen Angaben. Angesichts der übereinstimmenden Befunde an den übrigen 5 Mäusen — übereinstimmend, was bei der gewählten Infektionsart das Verhalten und die Wirksamkeit der Friedmannbazillen im Mäusekörper anlangt — kann man den Ausfall dieses Tieres mit in den Kauf nehmen.

Zusammenfassend läßt sich über die vorgenommenen Mäuseversuche sagen, daß bei subkutaner und intraperitonealer Infektion eine Infektiosität der Friedmannbazillen für die Maus nicht besteht. Ob nicht durch toxische Wirkung die Disposition zu interkurrenten Erkrankungen erhöht wird, mag dahingestellt bleiben. Jedenfalls stehen den 3 bald nach der Infektion gestorbenen Mäusen, für welche allein eine solche toxische Wirkung in Frage käme, 3 Tiere mit langer Lebenszeit gegenüber, und eine Beziehung zwischen Menge der Einspritzung und Verlauf, wie eine solche gerade für Toxine, deren Menge um das 10-fache schwankte, gefordert werden müßte, ist nicht in die Erscheinung getreten.

Friedmann (27) erhob bei 2 mit Lungenstückchen der Ausgangsschildkröte (I. Stamm) subkutan geimpften Mäusen einen völlig negativen Befund. Bei einer 3. ebenso infizierten Maus, die nach 7 Tagen eingegangen war, berichtet er über das Vorkommen von blau gefärbten, aber in Gestalt den Tuberkelbazillen gleichen Stäbchen an Impfstellen, im Peritonealexsudat und in einem kleinen Halsabszeß.

Inwieweit es sich bei den von mir in der Milz von Maus 3 gesehenen feinsten blauen Stäbchen um etwas ähnliches handelt, ist nachträglich nicht mehr zu entscheiden.

D. Versuche an Ratten.

Vier Ratten wurden mit 10 und 1 mg subkutan, mit 1,0 und 0,1 mg intraperitoneal geimpft (s. Tabelle V).

Tabelle V.
Versuche an Ratten.
(11 Tage alte Bouillonkultur.)

No.	Bezeichnung	Tag der Impfung	Menge g	Art der Impfung	Tier gestorben	Lebte Tage nach der Impfung	Ergebnis
1	II weiß	30. I. 14	0,01	subk.	1. V. 20	91	An Diplokokkeninfekt. eingegangen. 2. V. 14 Lunge auf Mw. 2882 subk. † 8. V. 20 o. B.
2	II rot	dgl.	0,001	„	unbekannt (nach dem 3. VIII.)	> 185	—
3	I weiß	„	0,001	ip.	dgl.	> 185	—
4	I rot	„	0,0001	„	3. VI. 20	124	Völlig o. B.

Ratte No. 1 ging 91 Tage nach der Impfung ein. Die Impfstelle war nicht mehr zu erkennen. Keine Drüsenschwellung. Leber, Milz und Nieren o. B. Die rechte Lunge stärkst aufgebläht; völlig durchsetzt von durchscheinenden, stecknadelkopfgroßen, mit Eiter, teilweise auch mit zähem Schleim gefüllten Herden. Im Unterlappen der linken Lunge einige auf Tuberkel schwach verdächtige Knötchen. Mikroskopisch in Leber, Milz und Nieren keinerlei Mikroorganismen zu sehen. Sowohl im dicken Eiter als im fadenziehenden Eiter, wie er sich mehr an der rechten Lungenwurzel vorfand, auch in den Herden der linken Lunge, sind massenhaft feinste, schmale Doppelstäbchen oder Doppelkokken vorhanden, die sich bei Ziehlfärbung blau, nach Gram violett färben. Säurefeste Stäbchen nirgends zu sehen.

Aus der Lunge wird auf Drygalskiagar, Glycerin und gewöhnlichem Agar ausgestrichen, außerdem wird am 2. V. 1914 ein Stückchen der rechten Lunge auf Meerschweinchen No. 2882 subkutan verimpft.

Die bei 37° gehaltenen Kulturausstriche aus der Lunge bleiben sämtlich steril (!).

Meerschweinchen 2882 stirbt schon am 8. V., also nach 6 Tagen.

Sektionsbefund: Kniefaltendrüsens leicht vergrößert, Milz leicht vergrößert, dunkel gefärbt, die Lungen etwas aufgebläht, im übrigen o. B.

Mikroskopisch in Leber und Milz reichliche, in den Drüsen vereinzelte grampositive Diplokokken, die wie Pneumokokken aussehen; Lunge frei von Mikroorganismen. Züchtungsversuch aus Drüsen, Milz und Lunge wiederum negativ (!).

Es steht demnach fest, daß Ratte 1 einer interkurrenten Infektion, wahrscheinlich mit einer den Pneumokokken nahestehenden Kokkenart, die sich leider nicht in Kulturen erhalten ließ, erlegen ist. Von einer auf die Infektion mit den Friedmannbazillen zurückzuführenden Veränderung war nichts zu bemerken.

Völlig negativ war der Sektionsbefund bei der nach 124 Tagen eingegangenen Ratte No. 4.

Außer einem Coccidiosebläschen an der Leber wurde an keinem Organe ein vom normalen abweichendes Verhalten gefunden. Von einer weiteren Untersuchung wurde, da der Befund hinsichtlich der Fragestellung, ob die Friedmannbazillen pathogen sind, eindeutig war, abgesehen.

Ueber die beiden Ratten No. 2 und 3 kann hier nur berichtet werden, daß sie Anfang August, also $\frac{1}{2}$ Jahr nach der Impfung, noch am Leben waren. Nach dem Ergebnis an den Ratten 1 und 4 darf mit Sicherheit angenommen werden, daß sie ebensowenig wie diese beiden Tiere spezifische, durch die eingeführten Bazillen hervorgerufene Veränderungen in ihrem Körper gehabt haben.

Wenn man auch den an Zahl geringen und durch äußere Umstände beeinträchtigten Rattenversuchen nicht mit dem gleichen Gefühl der Sicherheit gegenüberstehen kann, wie den Versuchen an den bisher erwähnten Tieren, so darf doch das eine mit Bestimmtheit festgestellt werden, daß ihr Ausfall keinen Anhalt für eine krankheitserregende Wirkung der Friedmannbazillen ergeben hat.

Hinsichtlich einer etwaigen Tuberkuloseähnlichkeit würden ja Rattenversuche überhaupt kaum in Betracht kommen.

Von Stanley Griffith (49) wird die Ratte der „resistant group“ gezählt. Aoki (1 u. 2), der 80 Ratten mit je 2 mg teils intraperitoneal, teils intravenös infiziert hatte, berichtet, daß 51 der Ratten nach 2—3 Monaten eingegangen sind, während der Rest nach 3—4 Monaten getötet wurde. Von 34 mit bovinen Tuberkelbazillen geimpften Tieren wurden 9, von 46 mit humanen Tuberkelbazillen infizierten Ratten 40 tuberkulös. Sowohl bei den intraperitoneal als bei den intravenös geimpften Ratten lokalisierte sich die Tuberkulose makroskopisch nur in den Lungen in Form von miliaren und submiliaren Knötchen, in denen man Tuberkelbazillen leicht durch Ausstrichpräparate nachweisen konnte.

Da, wenn überhaupt, für den Friedmannbacillus auf Grund seines Wachstums nur Beziehungen zum humanen Typus in Frage kommen, so kann die Unschädlichkeit für Ratten vielleicht als ein Beurteilungsmerkmal mitherangezogen werden.

Nach Galli-Valerio (47) ist allerdings in der Ratte keine Differenzierung des humanen und bovinen Typus möglich.

E. Versuche an Hühnern.

Am 30. I. 1914 wurden mit der 11 Tage alten Bouillonkultur schließlich auch noch 4 Hühner infiziert (s. Tabelle VI).

Tabelle VI.

No.	Farbe	Tag der Impfung	Menge	Art der Impfung	Gestorben (getötet) am	Lebte Tage n. der Impfung	Befund
1	weiß	30. I. 14	0,001 g	intrav.	8. V. 14	98	Frei von tuberkulösen Veränderungen
2	goldgelb	dgl.	0,001 g	„	6. VIII. 14 getötet	188	Völlig normal
3	braun	„	0,01 g	ip.	dgl.	188	Desgleichen
4	schwarz	„	0,01 g	„	„	188	„

Das 98 Tage nach der Impfung eingegangene Huhn No. 1 wies reichlichen Fettgehalt an Bauch und Hals auf. Der Kropf war mit grau-trüber Flüssigkeit gefüllt. Leber stark verfettet, im übrigen sämtliche inneren Organe völlig normal.

Die 3 anderen Hühner wurden am 6. VIII. 1914 getötet und wiesen sämtlich einen durchaus normalen Befund auf.

Die Friedmannbazillen sind demnach für Hühner gänzlich avirulent, ein Befund, der nicht weiter überraschend ist, wenn man die hohe Körpertemperatur des Huhnes in Betracht zieht.

Friedmann verwendet ja auch sein Mittel neuerdings reichlich zur Bekämpfung der Hühnertuberkulose, und zwar, wie er sagt, mit gutem Erfolge. Bei einer Virulenz der Bazillen für diese Tiere wäre eine derartige Impfung von vornherein ausgeschlossen.

Diesen bezüglich einer Schädlichkeit für das Huhn negativen Befunden gegenüber sind die Ergebnisse von 2 Hühnerimpfungen des I. Stammes [Friedmann (27)] von besonderem Interesse.

Bei einem mit Lungenknötchen der Ausgangsschildkröte intraperitoneal geimpften und nach 2 Monaten getöteten Tiere fanden sich in der Leber einige Knötchen, die säurefeste Stäbchen enthielten.

Ein 2., mit etwa 2 mg Reinkultur intraperitoneal geimpftes Huhn starb plötzlich nach 26 Tagen, wies fibrinöse Peritonitis mit käsigen peritonealen Schwarten, namentlich am Netz, sowie fibrinös-käsige Beläge und ganz vereinzelte säurefeste Bazillen enthaltende Knötchen auf der Leberoberfläche auf.

Makroskopisch in den verkäsenden Netzabschnitten sehr große, meist fibrös abgekapselte Herde mit enormen Massen von nach Form und Lagerung den Vogeltuberkelbazillen gleichenden „leuchtend roten“ Stäbchen. Friedmann weist auf die Ununterscheidbarkeit der Netzherde von ebenfalls verkäsenden Netzkonglomerattuberkeln einer spontan an Vogeltuberkulose eingegangenen Taube, die er kurz vorher untersuchen konnte, hin.

Ein 3., ebenfalls mit Reinkultur intraperitoneal gespritztes Huhn war nach mindestens etwa 4 Monaten, zur Zeit des Arbeitsabschlusses, noch am Leben.

Falls nicht, woran man unseres Erachtens denken müßte, bei dem 2. Huhne eine spontane Tuberkulose mit im Spiele war, würde dieser Befund auf eine Verwandtschaft der Friedmannbazillen zu den Vogeltuberkulosebazillen, für die im übrigen nicht der geringste Anhaltspunkt vorliegt, hindeuten.

F. Versuche an Fröschen.

Nachdem sich die Friedmannbazillen in unseren Versuchen den geprüften Warmblütern gegenüber als nicht pathogen erwiesen hatten, sollten sie mit einem anerkannten Kaltblütertuberkelbazillus in ihrer Wirkung auf Frösche verglichen werden.

Zum Vergleiche wurde ein von Herrn Reg.-Rat. Prof. Dr. Küster gütigst überlassener Froschtuberkulosestamm herangezogen. Dieser zeigte bei 37° kein Wachstum; seine bei Zimmertemperatur gewachsenen Kulturen wiesen insofern Erscheinungen von Polymorphie oder Mutation auf, als auf den gleichen Nährbodenarten (Agar und Glycerinagar) teils mehr trockene, mattere, gekräuselte, teils mehr feuchtglänzende Beläge auftreten. Bei der Züchtung auf Tuberkelbazillenbouillon glich den Friedmannbazillen die trockene Varietät mehr. Deshalb wurde sie gewählt.

Zur Impfung wurden die Bazillenmassen von je 2 gleichalten Bouillonkulturen — vom 27. IV. 1914 und 11. V. 1914 — genommen. Die Kulturen der beiden Stämme unterschieden sich nur darin, daß, wie erwähnt, die Froschbazillenkultur bei etwa 20°, die Friedmannkultur bei 37° gewachsen war.

Die Versuche sind in Tabelle VII (p. 311) kurz zusammengestellt.

Die Impfung erfolgte bei den Fröschen 1–6 stets in den Rückenlymphsack. Die Frösche gehörten der Gattung *Rana esculenta* an.

Von dem schon im Laufe des 2. Tages eingegangenen Frosch No. 5 darf abgesehen werden. Immerhin erscheint es auffällig, daß in der Leber noch keine Froschtuberkelbazillen nachzuweisen waren.

Tabelle VII.

Versuche an Fröschen vom 19. VI. 1914 (Impfung in den Rückenlymphsack).

Tier No.	Infektionsdosis	† am	Tage n. d. Impfung	Befund
Friedmannbazillen				
1	0,01 g	1. VII. 1914	12	Makroskopisch ohne Befund
2	0,005 g	24. VI. 1914	5	Makrosk. o. B. Mikrosk. in Leber u. Milz einige Säurefeste
3	0,001 g	1. VII. 1914	12	Negativ
7	Das Wasser im Glas wird mit 0,01 g infiziert	22. VII. 1914	33	Makroskopisch und mikroskopisch ohne Befund
8		dgl.	33	
Froschtuberkelbazillen				
4	0,005 g	24. VI. 1914	5	Leber: Säurefeste + + +, Lunge und Milz + +
5	0,001 g	21/22 VI. 1914	1½	Leber: Froschtuberkelbazillen mikroskopisch —
6	0,0001 g	24. VI. 1914	5	Lunge aufgetrieben, sonst Organe o. B. In Leber, Lunge und Milz säurefeste Stäbchen
9	Das Wasser im Glas wird mit 0,01 g infiziert	9. VII. 1914	30	Makroskopischer und mikroskopischer Befund negativ
10		nach dem 1. VIII. 1914	42	

Am 5. Tage gingen die drei Frösche No. 2, 6 und 4 (letzterer erst nachmittags) ein.

Der mit 5 mg „Friedmann“ geimpfte Frosch No. 2, ein männliches Tier, zeigte in allen Organen makroskopisch völlig normalen Befund; insbesondere waren nirgends Knötchen zu sehen. Mikroskopisch in der Leber vereinzelte kleine Häufchen von Säurefesten, ganz selten auch größere. Die Stäbchen sind kurz, gerade, mit deutlichen dunkleren Körnchen. Viele machen den Eindruck beginnenden Zerfalles. In der Lunge keine Säurefesten, dagegen viele andere Bakterien. In der Milz einige Häufchen Friedmannbazillen, kurze Formen.

Das Gegenstück zu Tier No. 2, Frosch No. 4, läßt makroskopisch ebenfalls keine Organveränderung erkennen (in der rechten Seite des Abdomens ein mit Flüssigkeit gefüllter Sack [??], Ovarium daneben vorhanden). Mikroskopisch finden sich in der Leber sehr zahlreiche lange, gewundene, homogen gefärbte, also keine Körnchen enthaltende rote Stäbchen, an denen manchmal Bilder, die an eine Verzweigung denken lassen, gesehen werden. Oft liegen sie in dicken Nestern vereinigt. In der Lunge teilweise die gleichen Häufchen. In der Milz ähnliche, aber spärlichere Häufchen wie in der Leber.

Der am gleichen Tage gestorbene Frosch No. 6 wies außer einem enormen Emphysem der rechten Lunge keine krankhaften Organveränderungen auf. Mikroskopisch in der Leber mäßig zahlreiche Einzelstäbchen und kleine Nester von Froschtuberkelbazillen. Die Bazillen sind lang und schlank, gewunden, ohne Körnchen. Daneben viele blaue plumpe Stäbchen. In der Lunge ganz vereinzelt mittellange, durchgefärbte rote Stäbchen, außerdem sehr zahlreiche blaufärbte Bakterien: feine Kurzstäbchen und kleinste Kokken. Reichlich Parasiteneier (Trematoden). Milz: Einige wenige Zellen mit phagozytierten Säurefesten, die deutlichen Zerfall zeigen (sie sehen wie angenagt aus).

Von den drei Fröschen No. 2, 4 und 6 wurden aus Leber und Lunge Kulturen auf Glycerin- und auf Tuberkuloseagar angelegt. Ueber das Ergebnis kann aus den eingangs der Arbeit erwähnten Gründen (Kriegsbeginn) leider nichts berichtet werden.

Die bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturen aus den Fröschen 4 und 6 sind zur Zeit der Niederschrift noch vorhanden, aber infolge stärkster Austrocknung läßt sich an ihnen nicht mehr viel feststellen. Von Interesse ist es, daß sich aus einer aus der Leber von Frosch No. 6 angelegten Kultur jetzt noch im Ausstrich reichlich zopfartige und bandförmige Massen von einzelnen langen, gewundenen, roten Stäbchen, die auf einem blauen Untergrunde mit dunkleren Körnchen ruhen, nachweisen lassen. Die Bazillenform ist bei den roten Stäbchen und Fäden deutlicher zu erkennen, als bei dem blauen Untergrunde.

Aber auch ohne daß der Befund an der Kultur vorliegt, allein aus dem mikroskopischen Ergebnis ist ein deutlicher Unterschied zwischen dem Verhalten der Friedmannbazillen beim Frosch 2 einerseits und dem der Froschtuberkelbazillen bei den Fröschen 4 und 6 andererseits unverkennbar. Dort nur wenige kleine Häufchen von Bakterien, die fast durchweg sichere Zeichen des Zerfalles oder der Schädigung aufweisen, hier reichlichere Bazillen, die nach ihrer Färbbarkeit und ihrer Gestalt einen vollkräftigen Eindruck machen. Als Erklärung für diesen Unterschied dürfte anzunehmen sein:

Durch die fortgesetzten Kulturpassagen bei 37° haben die Friedmannbazillen den Charakter als Kaltblüterbazillen mehr oder weniger eingebüßt. Dazu kommt, daß die verwendeten Friedmannkulturen, wie erwähnt, bei 37° gezüchtet waren. Solche bei Bruttemperatur gewachsenen Bazillen wurden verwendet, weil das Friedmannmittel stets aus bei 35—37° gezüchteten Kulturen hergestellt wird.

Die beiden nach 12 Tagen eingegangenen Frösche No. 1 und 3 ergaben weder makroskopisch noch mikroskopisch irgendeinen positiven Befund hinsichtlich der Friedmannimpfung.

Desgleichen ist der Versuch mit der Impfung des Wassers an den Fröschen 7—10 gänzlich negativ verlaufen.

Der nach 20 Tagen gestorbene Frosch 9 zeigte keinerlei makroskopische Veränderungen. Mikroskopisch waren Leber und Milz frei von säurefesten und anderen Bakterien. In der Lunge fanden sich reichlichst Bakterien verschiedenster Art, besonders ziemlich plumpe, mittellange Stäbchen und Ketten von zarten Diplokokken.

Die Frösche 7 und 8 wurden am 22. VII. 1914 von Herrn Dr. Roos seziert und untersucht. Im Protokoll findet sich eingetragen:

Makroskopisch sowie in Ausstrichpräparaten aus Leber und Lunge ohne Befund.

Ueber Frosch 10, der nach dem 1. VIII. 1914 eingegangen sein muß, fehlen mir die Angaben.

Im ganzen läßt sich sagen, daß die Friedmannbazillen, wenn überhaupt, dann höchstens eine toxische Wirkung auf die Frösche ausübten und sie für sekundäre Infektionen anfälliger machten. Zu einer Vermehrung im Froschkörper oder zur Bildung spezifischer Organveränderungen kam es bei unseren allerdings wenig zahlreichen Versuchen nicht. Im Gegenteil deuten die beobachteten Zerfallerscheinungen darauf hin, daß der Friedmannstamm im Frosche keinen ihm zusagenden Wirtsorganismus findet.

Zu den sekundären Infektionen sei noch bemerkt, daß schon am 12. VI. 1914, als die Frösche im Vorrat gehalten wurden, eines der Tiere spontan eingegangen war, und aus Leber und Lunge Bakterienkolonien verschiedener, jedoch nicht säurefester Art gewachsen waren. Auch mikroskopisch war die Leber frei von Säurefesten.

6. Versuche mit einem aus Friedmannbazillen hergestellten Tuberkulin.

Nach den gebräuchlichen Vorschriften wurde aus zwei Bouillonkulturen vom 12. III. 1914 und 5 vom 23. III. 1914 am 23. IV. 1914 ein Tuberkulin hergestellt. Dieses hatte eine etwas hellere Farbe, als die meisten echten Tuberkuline aufweisen.

Die mit dem „Friedmantuberkulin“ angestellten Versuche sind in folgender Tabelle VIII zusammengestellt. Die Injektion erfolgte subkutan.

Tabelle VIII.

No.	Datum	Meer- schweinchen No.	War infiziert	Tage = vor der Prüfung	Drüsenbefund am Versuchstage	Menge in Kubikzentimeter	Ergebnis
A. Tuberkulosefreie Meerschweinchen.							
1	11. V. 14	1827	19. XII. 13	143	0	4,0	} Negativ. Sämtliche Tiere bei der am 6. VI. 14 erfolgten Tötung völlig normal
2	11. V. 14	1781	16. XII. 13	146	0	2,0	
3	13. V. 14	2049	13. I. 14	120	0	2,0	
4	11. V. 14	1788	16. XII. 13	146	0	1,5	
5	11. V. 14	1785	16. XII. 13	146	0	1,0	
6	13. V. 14	2091	15. I. 14	118	0	1,0	
B. Tuberkuloseverdächtige und tuberkulöse Meer- schweinchen.							
7	13. V. 14	2050	13. I. 14	120	r. +	2,0	Negativ. 6. VI. 14 getötet; r. Leistendrüse bohnen groß, verkäst, sonst o. B.
8	19. VI. 14	1365	17. X. 13	245	r. ±	1,0	} Negativ. 4. VIII. 14 getötet; o. B.
9	dgl.	2641	28. III. 14	84	r. ±	0,8	
10	"	2605	14. III. 14	99	+++	0,5	} Positiv. Beide Tiere am 20. VI. 14 †
11	"	2712	9. IV. 14	71	++	0,5	
12	"	2731	11. IV. 14	69	+++	0,2	Negativ
13	"	2867	29. IV. 14	51	+++	0,2	"
14	"	2783	21. IV. 14	59	+++	0,1	"
15	"	3053	11. V. 14	39	++	0,1	"

Aus den Versuchen ergibt sich, daß das Friedmantuberkulin für gesunde Tiere selbst in der Dosis von 4,0 cem subkutan ungiftig ist. Hierzu ist zu bemerken, daß von gesunden Meerschweinchen 2 cem Alt-tuberkulin vertragen werden.

Die Prüfung an tuberkulösen Meerschweinchen ergab einen Titer von 0,5.

Bei dem Tier No. 10 war die Tuberkulinwirkung an den stark vergrößerten und verkästen Kniefaltendrüsen deutlich, wenn auch nicht sehr hochgradig. Sehr deutlich ausgesprochen war sie dagegen an der Lunge, und ebenso zeigten Leber und Milz starke herdförmige Hyperämien.

Bei Tier No. 11 war die Wirkung ebenfalls sehr deutlich: Hyperämie der Haut, Drüsen, Leber und Milz. Die von miliaren Tuberkeln durchsetzte Lunge zeigte die typischen Veränderungen in geringerem Grade, aber eine Wirkung war auch hier unverkennbar, namentlich am linken Unterlappen.

Von den mit höheren Dosen, aber mit negativem Ergebnis gespritzten Tieren No. 7—9 interessiert vor allem Tier No. 7. Bei der Tötung am 6. VI. 1914 wies es als einzigen krankhaften Befund eine bohnen große Schwellung der rechten Kniefaltendrüse mit Verkäsung auf, eine in Anbetracht der 144 Tage langen Lebensdauer nach der Infektion so geringgradige Erscheinung, daß man den negativen Ausfall der Tuberkulin-

impfung damit einigermaßen erklären kann. Ein mit der Kniefaltendrüse am 6. VI. 1914 subkutan infiziertes Meerschweinchen No. 3293 wurde am 4. VIII. 1914 getötet und erwies sich als frei von jeglichen tuberkulösen Erscheinungen. Desgleichen ergab die Tötung der beiden Tiere No. 8 und 9 am 4. VIII. völliges Freisein von Tuberkulose, so daß auch für diese Tiere die negative Tuberkulinreaktion erklärlich ist.

Für verschiedene Alttuberkuline schwankt der Titer nach den Angaben von Weber und Dieterlen (121) zwischen 0,4 und 0,02. Wie aus den Aufschriftzetteln auf den verschiedenen jetzt noch vorhandenen Tuberkulinen aus jener Zeit zu entnehmen ist, war der Titer für die weitaus überwiegende Mehrzahl der Präparate 0,1 und 0,2, nur recht wenige hatten einen solchen von 0,3, und die Angabe von 0,4 fehlt überhaupt, wobei aber sofort beizufügen ist, daß bei einer größeren Anzahl der Aufschriften Angaben über die Titerhöhe überhaupt fehlen.

Jedenfalls ist das Friedmantuberkulin als ein gegenüber der Mehrzahl der Alttuberkuline wesentlich schwächer wirksames Präparat zu bezeichnen.

Dieser Befund stimmt mit den Angaben in der Literatur über Tuberkuline aus sonstigen säurefesten Bakterien überein, wonach sich alle (das Farcin de bœuf von Feistmantel ausgenommen) als weit weniger giftig als das Alttuberkulin erwiesen [s. Loewenstein (79), p. 625].

Nach Ramond und Ravaut (102) reagierten tuberkulöse Meerschweinchen auf 0,5 ccm aus Fischtuberkelbazillen hergestellte Tuberkuline; sie starben jedoch selbst auf die Einspritzung von 1,0 ccm hin nicht. Auch Ledoux-Lebard stellte eine viel geringere Wirkung des „Fischtuberkulins“ gegenüber dem Kochschen Tuberkulin fest.

Während Ramond und Ravaut angeben, daß mit Fischtuberkelbazillen infizierte Tiere auf Kochsches Tuberkulin reagieren, sind nach Klopstock und Seligmann (65) mit Fischtuberkelbazillen infizierte Frösche gegen Fischtuberkulin, und mit den gleichen Bazillen infizierte Meerschweinchen sowohl gegen Fischtuberkulin wie gegen Alttuberkulin (intrakutan 0,02 bzw. subkutan 0,5) nicht überempfindlich. Tuberkulöse Tiere haben die letztgenannten Autoren nicht geprüft.

Bei einem Vergleiche unserer Befunde mit dem von Ramond und Ravaut an tuberkulösen Meerschweinchen mit Fischtuberkulin erhobenen ergibt sich für das Friedmantuberkulin immerhin eine gesteigerte Wirksamkeit, indem wir durch 0,5 ccm tuberkulöse Tiere töten konnten.

Dieses Verhalten der Friedmannbazillen stellt sie den echten Tuberkelbazillen etwas näher, als die Froschbazillen. Wenn man aber mit in Rechnung zieht, daß das Friedmann-tuberkulin aus bei 37° bebrüteten Bazillen, bei welcher Temperatur doch andere Stoffe in die Bouillon abgegeben werden dürften, als bei 20°, so fragt es sich, ob man angesichts des Umstandes, daß nach Feistmantel [zitiert bei Loewenstein (79)] ein aus Farcin de bœuf bereitetes Tuberkulin in Dosen von nur 0,01 mg tuberkulöse Meerschweinchen in 12 bis 14 Stunden tötete, aus unseren Befunden irgendwie weitergehende Schlüsse ziehen darf¹⁾. Der Abstand zum echten Tuberkulin, wenigstens zur Mehrzahl der geprüften Präparate, ist doch ein nicht ganz unbeträchtlicher.

Carapelle (15) gibt an, daß Tuberkuline aus Tuberkelbazillen menschlichen Typs, Hühnertuberkelbazillen und Fischtuberkelbazillen bei damit immunisierten Meerschweinchen die Bildung von Agglutininen und komplementbindenden Ambozeptoren hervorrufen, die sich den 3 Typen gegenüber gleichartig verhielten, während mit Rabinowitschtuberkulin abweichende Ergebnisse erhalten wurden. Er schließt daraus auf eine nahe biologische Verwandtschaft von Menschen-, Vogel- und Fischtuberkelbazillen.

Das Fischtuberkulin stand allerdings hinsichtlich der einfachen tödlichen Dosis (die Zahlen sind leider nicht angegeben) hinter den beiden anderen Tuberkulinen zurück, lieferte aber die relativ besten Ergebnisse bei der Schutz- und Heilbehandlung tuberkulöser Meerschweinchen.

III. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die in der vorliegenden Arbeit besprochenen mannigfachen Einzelbeobachtungen und Befunde lassen sich in großen Zügen in ihren wichtigsten Ergebnissen folgendermaßen zusammenfassen:

I. Literarischer Teil.

1) Für die Annahme, der 1. Schildkrötentuberkulosestamm Friedmanns stelle einen umgewandelten, „wunder-sam mitigierten“ humanen Bazillus dar, fehlt der Beweis.

a) Die von Friedmann angegebenen Gründe für eine solche Annahme sind nicht durchgreifend. Sowohl für das kulturelle Verhalten des Stammes — wobei von Friedmann das Hauptgewicht auf die Wachstumsfähigkeit bei 37° gelegt

1) Die Frage des Friedmantuberkulins wird von uns weiterverfolgt.

wird — als für das Verhalten im Tierkörper, finden sich Analogien bei anderen säurefesten Stämmen, die mit den humanen Tuberkelbazillen sicher nichts zu tun haben. So sei hier nur auf den von Weber und Taute aus der Leber eines Vorratsfrosches gezüchteten, ebenfalls bei 37° wachsenden Stamm von „Säurefesten“ hingewiesen. Als besonders maßgebend erscheinen uns in dieser Beziehung die Beobachtungen von Weber und Taute an Schildkröten, die sie mit säurefesten Bazillen, aus dem Schlamm von Süßwasserbecken (in denen die in Salzwasser gehaltenen Friedmannschen Schildkröten niemals waren) geimpft hatten. Die Darstellung Friedmanns über das Verhalten seines Stammes in Kultur und im Tierversuch müssen wir daher als subjektiv beeinflusst ansehen und können in Uebereinstimmung mit den genannten Forschern darin nichts derartig Besonderes und und Wunderbares erblicken, wie es nach Friedmanns Angaben erscheinen könnte. So geht, um nur eines zu erwähnen, Friedmann über den so augenfälligen Unterschied gegenüber den echten Tuberkelbazillen hinsichtlich der Schnelligkeit und Ueppigkeit des Wachstums seiner Bakterien fast völlig hinweg.

b) Als Gründe, die gegen die Friedmannsche Umwandlungsannahme sprechen, werden von uns angeführt einmal die zeitlichen Verhältnisse bei der ersten Schildkröte, ferner der Umstand, daß eine künstliche Umwandlung trotz verschiedener darauf gerichteter Versuche noch nicht gelungen, geschweige denn einwandfrei bewiesen ist.

2) Die Befunde von Orth sind als seltener Ausnahmefall anzusehen.

3) In der Folgezeit hat Friedmann einen 2. Stamm aus einer seltenen Schildkrötenart herausgezüchtet, der bei Bruttemperatur nicht gedieh. Bezüglich seiner Beziehungen zum Menschentuberkelbazillus hat sich Friedmann nicht geäußert.

Für den III., jetzt zum Friedmannschen Heilmittel verwendeten Stamm wird der humane Ursprung von Friedmann selbst abgelehnt.

Dieser III. Stamm unterscheidet sich vom I. in kultureller Beziehung überhaupt nicht, bezüglich des Verhaltens im Meerschweinchen nur in geringem Maße in quantitativer Hinsicht.

Durch lange fortgesetzte Züchtung auf künstlichen Nährböden hat er nach Friedmann die letzten Spuren von Virulenz verloren.

4) Es erscheint beachtlich, daß unter allen Kaltblütern und Poikilothermen, bei denen bis jetzt säurefeste Bakterien als sogenannte Tuberkuloseerreger festgestellt wurden, die Schildkröten dem Menschen im zoologischen System am nächsten stehen. Auf die besonderen physiologisch-physikalischen Verhältnisse in der Schildkrötenlunge wird hingewiesen.

5) Wenn die Schildkrötentuberkelbazillen die einzigen säurefesten Bazillen wären, die kulturell und nach ihrem Verhalten im Tierkörper (Meerschweinchen) den echten Tuberkelbazillen in dem von Friedmann behaupteten Maße nahe stehen, so würden die unter 4) erwähnten Umstände vielleicht als Erklärung mitherrangezogen werden können. Es gibt aber (vgl. I. 1a) eine Reihe von anderen Säurefesten, die sich zum mindesten äußerst ähnlich verhalten.

6) Durch spezifische, immunobiologische Reaktionen haben sich nach der Mehrzahl der Forscher die sogenannten Kaltblütertuberkelbazillen, ebenso wie die sicher saprophytischen „Säurefesten“ nicht von echten Tuberkelbazillen abtrennen lassen; nach anderen Autoren finden sich Unterschiede. So sind die Angaben von Sobernheim, der allerdings die Friedmannbazillen nicht untersucht hat, besonders bemerkenswert. Er konnte durch Agglutination mit einem hochwertigen Tuberkulosepferdeserum die Blindschleimentuberkelbazillen scharf vom Typus humanus und bovinus abtrennen. Ganz ebenso verhielten sich aber die Hühnertuberkelbazillen, der Mistpilz und der Butterpilz Rabinowitsch.

7) Geht man von dem Gedanken aus, daß alle sogenannten Kaltblütertuberkelbazillen nur verschiedene, im Laufe der Jahrtausende an bestimmte Tiergattungen angepaßte Varietäten einer und derselben Art von säurefesten Bazillen sind, so darf für die Kaltblütertuberkelbazillen der gleiche Anspruch einer scharfen Abtrennung hinsichtlich der Pathogenität für den Menschen erhoben werden, wie er für die an die wesentlich höheren Temperaturen der

Vögel angepaßten Geflügeltuberkelbazillen längst als berechtigt anerkannt ist.

8) Die überwiegende Mehrzahl der Forscher hat für das Mittel Friedmanns, bzw. die aus ihm heraus gezüchteten Stämme, und ebenso für die aus Impfabzessen beim Menschen gewonnenen Kulturen teils überhaupt keine, teils höchst geringe Pathogenität gegenüber dem Meerschweinchen festgestellt. Bei Stämmen, die längere Zeit im menschlichen Körper verweilt haben, ist ein derartiger negativer Befund von besonderer Bedeutung.

Eine Minderzahl der Forscher hat bei den erstgeimpften Meerschweinchen mehr oder weniger tuberkuloseähnliche Befunde, meist jedoch nur in geringem Grade, erhoben. Bei Weiterverimpfung der veränderten Organe auf ein 2. Meerschweinchen hatte aber auch von diesen Forschern die Mehrzahl negative Ergebnisse.

9) Eine Ausnahme bilden nur die Beobachtungen von Kaufmann und namentlich die beachtenswerten Versuche von Schröder. Die Bedenken und Einwände gegen diese Feststellungen werden angeführt.

10) Selbst wenn unter extremen Bedingungen hinsichtlich Infektionsdosis allmählich eine hochgradige Steigerung der Meerschweinchenvirulenz zu erzielen wäre, so würde das für die Gefährlichkeit des Mittels für den Menschen nicht allzuviel besagen, da ja Weiterverimpfung des Stammes von Mensch zu Mensch — und nur so könnte die „Rückanpassung“ an den Menschen zustande kommen — als ausgeschlossen zu bezeichnen ist.

II. Eigene Untersuchungen.

1) Die Angaben Friedmanns und der übrigen Forscher über das kulturelle Verhalten der Schildkrötentuberkelbazillen wurden bestätigt.

2) Der Polymorphismus der Kulturbedläge, abhängig von der Züchtungstemperatur, die Erscheinung der Temperaturgewöhnung lassen auf eine mehr saprophytische, „noch nicht als Krankheitserreger festgewordene“ Art schließen.

3) Das „Mittel“ erwies sich in Dosen, die das Hundert- und Tausendfache der bei echten Tuberkelbazillen zum Tode führenden Mengen betrug, gegenüber Meerschweinchen und Kaninchen, abgesehen von der gelegentlichen Bildung von Abszessen, als völlig apathogen.

4) Die aus dem Mittel gezüchtete Kultur zeigte gegenüber den geprüften Tieren folgendes Verhalten:

a) Meerschweinchen. Eine Pathogenität konnte nicht festgestellt werden. Erscheinungen von Marasmus nach der Injektion waren höchstens bei einem Tier und auch nur in angedeuteter Weise zu beobachten.

Es hat aber den Anschein, als ob die Einspritzung der Friedmannbazillen bei Tieren, die durch Meerschweinchen-seuche gefährdet (Stallgenossen!) oder vielleicht schon mit ihr latent infiziert sind, den Ausbruch der Seuche begünstigen würde. Witterungs- (Jahreszeit-) Einflüsse spielen dabei eine unverkennbare Rolle. Ueberall, wo wir tuberkuloseverdächtige Veränderungen fanden, glauben wir stets den einwandfreien Beweis erbracht zu haben, daß hier Seuche vorgelegen hatte.

Es ist zu vermuten, daß die Befunde einiger anderer Autoren durch dieses Hereinspielen von Seuche beeinflusst wurden.

Die von uns gewählten Dosen (bis zu 20 mg subkutan und intraperitoneal) waren, wenn auch nicht so hoch wie die mancher anderen Autoren, so doch derart, daß sie das Millionenfache der bei echten Tuberkelbazillen noch krankheitserregenden und den Tod der Meerschweinchen herbeiführenden Mengen betrug.

Die eingespritzten Bakterien waren vom 7. Tage ab nur mehr an der Impfstelle nachweisbar (mikroskopisch und durch Züchtung).

b) Für Kaninchen erwies sich die Kultur ganz avirulent (bis zu 80 mg subkutan).

c) Weder in der Maus (1 mg subkutan oder intraperitoneal) noch in der Ratte (60 mg subkutan) werden durch die Kultur krankhafte Veränderungen hervorgerufen.

d) Ebenso avirulent erwies sich die Kultur gegenüber Hühnern (vgl. hierzu I. 6, Uebereinstimmung im agglutinatorischen Verhalten betr., p. 318).

e) Bei an Fröschen angestellten Parallelversuchen mit Froschbazillen zeigte sich ein deutlicher Unterschied der Friedmannbazillen gegenüber jenen. Die Verbreitung im Froschkörper war eine viel geringere (wohl infolge der Angewöhnung an höhere Temperatur).

5) Ein von uns dargestelltes Friedmann-tuberkulin erwies sich als für normale Tiere in großen Dosen unschädlich. Bei tuberkulösen Tieren war es wohl wirksam, aber erst in deutlich höheren Dosen, als es für die Mehrzahl der aus echten Tuberkelbazillen hergestellten Tuberkuline festgestellt ist.

(Das Froschtuberkulin ist nach vorliegenden anderweitigen Angaben noch weit weniger wirksam, als das Friedmann-tuberkulin.)

6) Wir erblicken in den Friedmannschen Schildkrötentuberkelbazillen eine Bakterienart, die den sogenannten Kaltblütertuberkelbazillen wie den saprophytischen Säurefesten weit näher steht, als den echten Tuberkelbazillen.

7) Wir tragen kein Bedenken, sie auf Grund der von uns und von der Mehrzahl der anderen Autoren festgestellten Unschädlichkeit für Meerschweinchen — die anderen Laboratoriumstiere kommen hierfür nicht in Betracht — als für den Menschen nicht schädlicher zu halten, als alle anderen sichersaprophytischen säurefesten Bakterien.

IV. Benutzte Literatur.

- 1) Aoki, K., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 75, 1913, p. 62.
- 2) — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 7, Beiheft, p. 298*.
- 3) Aronson, H., Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 10, p. 487.
- 4) Aujesky, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 42, 1906, p. 397.
- 5) Bacmeister, Tuberculosis, 1913, p. 335.
- 6) Barnes, Lee Harry, The Prov. Med. Journ., Nov. 1913, Sonderabdruck.
- 7) Baumann, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 24, p. 1216.
- 8) Beck, M., Tub.-Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, Heft 3, 1907, p. 145.
- 9) v. Betagh, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 58, p. 3.
- 10) Bezançon et Philibert, Rev. de la tub., 15. VIII. 1905.
- 11) Biermann, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 17, p. 839.
- 12) Bischoff und Schmitz, Med. Klinik, 1914, p. 1135.

- 13) Brauer, L., Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 17, p. 833.
- 14) — ebenda, No. 20, p. 1019.
- 15) Carapelle, E., Biochim. e Terap. sper., Vol. 3, 1912, p. 357. (Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., 1912, p. 874.)
- 16) Dean, G., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 1903, p. 222.
- 17) Deilmann, O., Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Abt., Orig., Bd. 10, p. 421.
- 18) Dostal, H., und Ender, Fr., Wiener klin. Wochenschr., 1913, p. 1121.
- 19) Dieudonné und Otto, Artikel Pest. Kolle-Wassermanns Handbuch, 2. Aufl., 1913, Bd. 4, p. 175.
- 20) Draechter, R., Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 28, p. 1422.
- 21) Dührssen, A., Münch. med. Wochenschr., 1919, No. 40, p. 1150.
- 22) Ehrlich, Min.-Bl. f. Medizinalangelegenheiten, 1919, No. 32 vom 6. VIII. 1919.
- 23) Fitschen, Eleonore, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 80, p. 29.
- 24) Fraenkel, C., Hyg. Rundschau, 1907, p. 1112.
- 25) Friedmann, F. F., Deutsche med. Wochenschr., 1903, No. 2, p. 25.
- 26) — Zeitschr. f. Tub., Bd. 4, 1903, Heft 5, p. 439.
- 27) — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 1903, p. 647.
- 28) — Deutsche med. Wochenschr., 1903, No. 26, p. 464.
- 29) — ebenda, 1903, No. 50, p. 953.
- 30) — ebenda, 1904, No. 5, p. 166.
- 31) — ebenda, 1904, No. 12, p. 431.
- 32) — ebenda, 1904, No. 46, p. 1673.
- 33) — ebenda, 1904, No. 49, p. 1816.
- 34) — ebenda, 1905, No. 5, p. 184.
- 35) — Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 47, p. 2214.
- 36) — Diskussion: a) ebenda, 1912, No. 47, p. 2241—46; b) ebenda, No. 49, p. 2329—35.
- 37) — Disk. z. Vortr. Westenhöfer, ebenda, 1913, No. 25, p. 1178.
- 38) — ebenda, 1913, No. 44, p. 2070.
- 39) — (mit Schleich, Müller, Thalheim, Friedmann u. Kraus) ebenda, No. 45, p. 2073.
- 40) — Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 13, p. 655.
- 41) — ebenda, 1914, No. 18, p. 901.
- 42) — ebenda, 1914, No. 25, p. 1265.
- 43) — Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 30, p. 1410.
- 44) — Deutsche med. Wochenschr., 1918, p. 1307.
- 45) Fritzsche, E., Arch. f. Hyg., Bd. 65, 1908, p. 181.
- 46) Fromme, Med. Klinik, 1914, p. 1136.
- 47) Galli-Valerio, Schweizer Korrespondenzbl., 1919, No. 35.
- 48) Gengou, Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 48, p. 1531.
- 49) Griffith Stanley, Final report of the Royal Commission, Part II, Ap., Vol. 1, p. 12.
- 50) Gottstein, E., Hyg. Rundschau, 1905, p. 281.
- 51) v. Gyergyai, Beitr. z. pathol. Anat. u. allgem. Pathol., Bd. 22, 1908, Heft 3. (Ref. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 43, p. 59.)
- 52) Herzog, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 1903, p. 535 u. 675.

- 53) Hierocles, Hyg. Rundschau, 1898, p. 67.
- 54) Jakobitz und Kayser, Münch. med. Wochenschr., 1910, p. 1172.
- 55) Jansco und Elfer, Brauers Beitr., Bd. 18, 1911, Heft 2.
- 56) Kaufmann, K., Beitr. z. Klinik d. Tub., Bd. 32, 1914, p. 249.
- 57) — Deutsche med. Wochenschr., 1914, p. 1430.
- 58) Kirch, E., Archiv f. Hyg., Bd. 78, 1913, p. 327.
- 59) Klemperer, F., Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 48, 1904, p. 250.
- 60) — Therapie d. Gegenwart, Jahrg. 54, 1913, p. 28.
- 61) — ebenda, Heft 12, p. 557.
- 62) — Tuberculosis, Bd. 56, Heft 3 u. 4.
- 63) Klimmer, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 43, 1909, p. 10.
- 64) Klopstock, F., Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 46, p. 1269.
- 65) — und Seligmann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 76, 1914, p. 77.
- 66) Koch, R., Deutsche med. Wochenschr., 1901, No. 48, p. 829.
- 67) — Schütz, Neufeld und Miessner, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 51, 1905, p. 300.
- 68) — M., und Rabinowitsch, L., Virchows Arch., Beiheft z. Bd. 190, 1907, p. 246.
- 69) Köhler, O., Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 3, p. 76.
- 70) Kraus, F., Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 19, p. 967.
- 71) — R., und Volk, R., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910, p. 683.
- 72) Krause and Baldwin, Publ. Health Rep., Vol. 29, 1914.
- 73) Kruse, W., Deutsche med. Wochenschr., 1918, No. 6, p. 147.
- 74) Küster, E., Zeitschr. f. Tub., Bd. 8, 1906, Heft 3 u. 4, p. 287 (hier umfangliche Literaturangaben), und Münch. med. Wochenschr., 1905, No. 2, p. 57.
- 75) Ledoux-Lebard, Compt. rend. Soc. biol., 1898, p. 601.
- 76) Libbertz und Ruppel, Deutsche med. Wochenschr., 1905, No. 4, p. 139, und No. 5, p. 182.
- 77) Lindemann, E. A., Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 41, p. 1921.
- 78) Lindner, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 48, 1915, p. 112.
- 79) Löwenstein, E., Kolle-Wassermann, 2. Aufl., Bd. 5, 1913, p. 549.
- 80) Meinicke, E., Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 27, p. 1372.
- 81) Mindes, Leo, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 77, p. 113.
- 82) Moeller, A., Zeitschr. f. Tub. u. Heilst.-Wes., Bd. 5, 1904, p. 206.
- 83) — Deutsche med. Wochenschr., 1904, No. 12, p. 431.
- 84) — Tuberculosis, Bd. 12, 1913, p. 465.
- 85) — Therapie d. Gegenwart, Bd. 54, 1913, Märzheft, p. 125.
- 86) Möllers, B., Zeitschr. f. Tub., Bd. 31, 1909, Heft 3.
- 87) Moriya, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 45, 1908, p. 294.
- 88) Müller, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 84, 1920, p. 256.
- 89) Neumann, W., Wiener klin. Wochenschr., 1914, p. 731.
- 90) Oettinger, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 60, 1908, p. 557.
- 91) Orth, J., Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 20, p. 645.
- 92) — ebenda, 1907, No. 33, p. 1056.
- 93) — und Rabinowitsch, L., Virchows Arch., Beiheft z. Bd. 190, 1907, p. 1.

324 Lange, Das Friedmannsche Tuberkulose-Schutz- u. -Heilmittel.

- 94) Philibert, A., Les pseudo-bacilles acido-résistants. Paris (E. Steinheil) 1908.
- 95) Piorkowski, M., Deutsche med. Wochenschr., 1914, p. 840.
- 96) Polak, Daniels L., Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., 30. X. 1910. (Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., 1909, p. 778.)
- 97) Rabinowitsch, Lydia, Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 22, p. 866.
- 98) — Virchows Archiv, Beiheft z. Bd. 190, 1907, p. 196.
- 99) — Disk.-Bem. z. Vortr. v. Westenhöfer, Berl. klin. Wochenschr., 1913, No. 25, p. 1178.
- 100) — Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 14, p. 686.
- 101) — ebenda, p. 904.
- 102) Ramond et Ravaut, Compt. rend. Soc. biol., 1898, p. 587.
- 102a) Römer, P., Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 18, p. 813.
- 103) Ruck, K. v., The Lancet, Clinic, 1. III. 1913.
- 104) Saisawa, K., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 74, 1913, p. 353.
- 105) — ebenda, Bd. 74, p. 401.
- 106) Schmitz, K. F. F., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 80, 1915, p. 457.
- 107) Schröder, G., Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 41, p. 1124.
- 108) de Schweinitz, Med. News, 8. XII. 1894.
- 109) Seligmann, E., und Klopstock, F., Beitr. z. Klinik d. Tuberk., Bd. 42, Heft 1, p. 45.
- 110) Siebert, C., Deutsche med. Wochenschr., 1914, p. 535.
- 111) Sion, V., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 27, 1900, p. 710.
- 112) Sobernheim, G., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, p. 349.
- 113) Sörgo, J., Wiener klin. Wochenschr., 1907, No. 38, p. 1126.
- 114) — und Suess, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 43, 1907, p. 422.
- 115) Stefansky, W. K., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 33, No. 7, p. 481.
- 116) Tsukiyama, K., Inaug.-Diss. Gießen, 1908.
- 117) Vulpius, O., und Laubenheimer, C., Deutsche med. Wochenschrift, 1914, No. 10, p. 501.
- 118) — — (s. No. 40), ebenda, 1919, No. 13, p. 655.
- 119) Weber, A., Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 19, 1902, p. 251.
- 120) — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 64, 1912, p. 240.
- 121) — und Dieterlen, Tub.-Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Heft 10, p. 217.
- 122) — und Taute, M., ebenda, Heft 3, 1905, p. 110.
- 123) — und Titze, ebenda, Heft 7, 1907, p. 1.
- 124) Westenhöfer, Berl. klin. Wochenschr., 1913, No. 27 (27. VII.), p. 1245.
- 125) Windrath, Med. Klinik, 1914, No. 22, p. 926.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg.]

Ueber das Wesen der Tuberkulinreaktion¹⁾.

Von Prof. Dr. H. Selter.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Februar 1921.)

Die Tuberkulinreaktion, die heute für die Diagnose einer tuberkulösen Erkrankung als unentbehrliches und allgemein anerkanntes Mittel gilt, ist uns in ihrem Zustandekommen noch gänzlich unbekannt. Dabei stellt die Tuberkulinreaktion, abgesehen von ihrer diagnostischen und therapeutischen Bedeutung, auch insofern eine der wichtigsten Erscheinungen der Medizin dar, als sie zweifellos aufs innigste mit der Tuberkuloseimmunität zusammenhängt, und eine Erklärung der Tuberkulinreaktion auch einiges Licht in das dunkle Gebiet der Tuberkuloseimmunität werfen würde. Die Tuberkulinreaktion wird meist als Antikörperreaktion aufgefaßt, indem im Körper des mit Tuberkelbazillen infizierten Organismus gebildete Antikörper mit dem Tuberkulin in eine Verbindung treten sollen. Nach Wassermann und Bruck²⁾ soll es sich um Antikörper von Ambozeptorencharakter handeln, die sich mit dem Tuberkulin unter Bindung von Komplement vereinigen und eine Entzündung und Einschmelzung des tuberkulösen Gewebes (Herdreaktion) hervorrufen. Pickert und Löwenstein³⁾ wollen derartige Antikörper, die sie Antikutine nennen, im Serum von mit Tuberkulin behandelten tuberkulösen Patienten nachgewiesen haben. Wurde dieses Serum mit Tuberkulin im Reagenzglas vermischt, und diese Mischung einem positiv reagierenden Menschen intrakutan injiziert, so blieb die Reaktion aus, ein Zeichen, daß das

1) Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Mitteln der Robert Koch-Stiftung ausgeführt.

2) Wassermann und Bruck, Deutsche med. Wochenschr., 1906, p. 2396.

3) Pickert und Löwenstein, Ebenda, 1908, p. 2262.

Zeltschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.

Tuberkulin durch das Serum neutralisiert war. Die Versuche von Pickert und Löwenstein sind aber eindeutig von Aronson¹⁾ und Sörgo²⁾ widerlegt worden. Diese Forscher sehen in der Tuberkulinreaktion überhaupt keine Antikörperreaktion im Sinne der Ehrlichschen Anschauungen, da das Tuberkulin einmal nicht als Antigen wirkt, und es nicht gelingt, die Tuberkulinüberempfindlichkeit durch das Serum passiv zu übertragen. Uebrigens konnte auch Löwenstein selbst die für tuberkulöse Meerschweinchen tödliche Tuberkulindosis durch große Dosen Serum von mit Tuberkulin behandelten Menschen nicht beeinflussen. Zwar kann nicht bestritten werden, daß im Serum tuberkulöser Organismen Antikörper, z. B. Agglutinine, Präzipitine, komplementbindende usw. vorkommen, von denen aber zweifelhaft ist, ob sie für die Tuberkuloseimmunität eine Rolle spielen. Der Nachweis humoraler gegen das Tuberkulin gerichteter Antikörper kann heute wohl als im negativen Sinne erledigt angesehen werden.

Eine neue Stütze bekam die Antikörpertheorie der Tuberkulinreaktion durch die Untersuchungen von Bail³⁾, dem es gelang, durch Uebertragung von tuberkulösem Gewebe auf gesunde Meerschweinchen diese gegen Tuberkulin überempfindlich zu machen. Nach Bail entsteht im Organismus durch die Ansiedlung des Tuberkelbacillus das tuberkulöse Gewebe, in welchem sich die Rezeptoren der Ehrlichschen Theorie befinden, die das Tuberkulin verankern. Nun soll entweder das im tuberkulösen Herde festgehaltene Tuberkulin zu einer sehr giftigen Modifikation umgewandelt werden, welche als solche in den Kreislauf gelangt und die schweren Allgemeinerscheinungen der Reaktion bewirkt, oder das Tuberkulin bleibt ungeändert, findet aber eine sehr große Angriffsfläche nicht nur im erkrankten Gewebe, sondern auch über das Gewebe hinaus. Während die Bailschen Versuche von Onaka⁴⁾ bestätigt wurden, kamen Joseph⁵⁾, Kraus,

1) Aronson, Berl. klin. Wochenschr., 1912, p. 2310, und Archiv f. Kinderheilkunde, Bd. 60 u. 61, 1913.

2) Sörgo, Wiener klin. Wochenschr., 1913, p. 1837.

3) Bail, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1910, p. 470.

4) Onaka, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, p. 507.

5) Joseph, Beitr. z. Klinik d. Tuberk., Bd. 17, p. 461.

Löwenstein und Volk¹⁾, sowie Neufeld und Dold²⁾ zu negativen Resultaten. Gegen diese letzten wandte Bail³⁾ in neuen Versuchen, die dasselbe Ergebnis wie seine ersten hatten, ein, daß die Autoren mit zu geringen Mengen gearbeitet hätten, und daß das zu verwendende Organ durch und durch tuberkulös sein müsse. Da die Versuche Bails in der Folge von anderen Forschern, wie Bessau und Friedberger, als maßgebend angesehen wurden, nahm ich Veranlassung, sie noch einmal unter zum Teil geänderten Bedingungen zu wiederholen. Würde Bail mit seiner ersten Anschauung recht haben, daß im tuberkulösen Gewebe sitzende Antikörper mit ihren Rezeptoren das Tuberkulin an sich reißen und in eine giftig wirkende Substanz umwandeln, dann müßte diese Veränderung auch außerhalb des Körpers beim Vermischen von tuberkulösem Organbrei und Tuberkulin zu erwarten sein, so daß die Einspritzung dieser Mischung sofort tödlich wirken müßte. Weiterhin mußte es dann auch möglich sein, durch Auswaschung dieser Mischung festzustellen, ob das Tuberkulin wirklich an das tuberkulöse Gewebe gebunden war, wenn die Auswaschflüssigkeit sich als tuberkulinfrei erwies. Hierüber sollten eigene Untersuchungen Aufschluß geben. Zu diesem Zwecke wurden von einem stark tuberkulösen Meerschweinchen ein Teil der vollständig tuberkulös durchsetzten Leber und die Milz (10 g schwer), zusammen 20 g, unter Zusatz von 16 g Kochsalzlösung verrieben, und der Brei in zwei gleiche Teile geteilt. Dem einen Teil wurden 2 ccm Alttuberkulin zugesetzt, dem anderen Teil 2 ccm Alttuberkulin und 2 ccm frisches, normales Meerschweinchen-serum, um auch die Rolle des Komplementes, das ja in dem tuberkulösen Gewebe zum größten Teil verbraucht sein konnte, zu untersuchen. Dasselbe wurde mit der Leber eines gesunden Meerschweinchens angestellt. Die 4 Röhrchen mit Organbrei blieben eine Stunde im Wasserbad bei 37°, dann wurde zentrifugiert, das Filtrat abgenommen, der aus Zellsubstanz bestehende Bodensatz mit Kochsalzlösung gewaschen und mit

1) Kraus, Löwenstein und Volk, Deutsche med. Wochenschr., 1911, p. 389.

2) Dold, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, p. 53.

3) Bail, Ebenda, Bd. 12, p. 451.

dieser Lösung wieder bis zur früheren Verdünnung versetzt. Von den Filtraten und Organemulsionen wurden je 5 ccm intraperitoneal an gesunde und tuberkulöse Meerschweinchen verimpft.

Me. 1. 225 g, gesund, erhält 5 ccm Filtrat von tuberkulösem Organ + Alttuberkulin! Keine Wirkung. Das Tier geht nach 18 Tagen an deutlicher Organtuberkulose ein.

Me. 2. 405 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Filtrat von tuberkulösem Organ + Alttuberkulin. Temperatur nach 2 Std. 38,4°; nach 3 Std. 39,6°. Stirbt in der Nacht. Sektion zeigt starke Organtuberkulose.

Me. 3. 225 g, gesund, erhält 5 ccm Emulsion von gewaschenem, tuberkulösem Organ + Alttuberkulin. Keine Wirkung. Geht nach 14 Tagen an starker Organtuberkulose ein.

Me. 4. 530 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Emulsion von gewaschenem, tuberkulösem Organ + Alttuberkulin. Keine Wirkung. Temp. nach 2 Std. 36,7°; nach 3 Std. 36,5°. Wird nach 18 Tagen getötet. Starke Organtuberkulose, bei der sich nicht beurteilen läßt, ob sie durch die Injektion mit Organbrei beeinflusst ist. Die Milz ist mit Eiter bedeckt, was vielleicht darauf zurückgeführt werden kann.

Me. 5. 325 g, gesund, erhält 5 ccm Filtrat von tuberkulösem Organ + Alttuberkulin + Komplement. Keine Wirkung. Stirbt nach 3 Tagen an eitriger Peritonitis.

Me. 6. 525 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Filtrat von tuberkulösem Organ + Alttuberkulin + Komplement. Temperatur nach 2 Std. 37,1°; nach 3 Std. 37,7°. Stirbt in der Nacht. Starke Organtuberkulose.

Me. 7. 265 g, gesund, erhält 5 ccm Emulsion von gewaschenem, tuberkulösem Organ + Alttuberkulin + Komplement. Keine Wirkung. Wird nach 18 Tagen getötet. Leichte Organtuberkulose.

Me. 8. 520 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Emulsion von gewaschenem, tuberkulösem Organ + Alttuberkulin + Komplement. Keine Wirkung. Temperatur nach 2 Std. 37,5°; nach 3 Std. 39,1°. Stirbt nach 9 Tagen. Starke Organtuberkulose.

Me. 9. 550 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Filtrat von normalem Organ + Alttuberkulin. Temperatur nach 2 Std. 38,6°; nach 3 Std. 39,8°. Stirbt in der Nacht. Starke Organtuberkulose.

Me. 10. 570 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Emulsion von gewaschenem, normalem Organ + Alttuberkulin. Keine Wirkung. Temperatur nach 2 Std. 37,1°; nach 3 Std. 39,2°. Wird nach 18 Tagen getötet. Deutliche Organtuberkulose.

Me. 11. 560 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Filtrat von normalem Organ + Alttuberkulin + Komplement. Keine Wirkung. Temperatur nach 2 Std. 39,4°; nach 3 Std. 39,6°. Wird nach 3 Monaten getötet. Starke Organtuberkulose.

Me. 12. 335 g, tuberkulös, erhält 5 ccm Emulsion von gewaschenem, normalem Organ + Alttuberkulin + Komplement. Keine Wirkung.

Temperatur nach 2 Std. 37,2°; nach 3 Std. 39,4°. Wird nach 2 Monaten getötet. Schwache Organtuberkulose.

Aus diesen Versuchen können folgende Schlüsse gezogen werden:

1) Weder die Filtrate noch die Emulsionen aus tuberkulösen Organen in Verbindung mit Alttuberkulin und Komplement üben auf gesunde Meerschweinchen eine Wirkung aus, ein Zeichen, daß durch die tuberkulösen Gewebszellen, auch nicht in Verbindung mit Komplement, aus dem Tuberkulin ein Gift nicht abgespalten wird.

2) Auf tuberkulöse Meerschweinchen wirken nur die Filtrate, ein Beweis, daß das Tuberkulin nicht an die tuberkulösen Gewebszellen gebunden wird, sondern frei bleibt. Die Wirkung ist dieselbe wie bei der gewöhnlichen intraperitonealen Injektion. Es kann also nicht aus dem Tuberkulin durch Vermischung mit tuberkulösem Gewebe eine wirksamere Modifikation des Tuberkulins gebildet sein, da diese dann eine schnellere Wirkung hätte ausüben müssen.

Eine Ausnahme macht Tier No. 11, bei dem eigentlich der Tod hätte eintreten müssen. Es ist aber bekannt, daß tuberkulöse Meerschweinchen durch eine intraperitoneale Injektion von 0,5 ccm Alttuberkulin nicht mit absoluter Sicherheit getötet werden. Es handelt sich bei diesen Tieren auch um solche, die vor etwa 7 Monaten mit einer sehr geringen Menge Tuberkelbazillen infiziert waren, wobei nicht ausgeschlossen ist, daß gerade bei diesem Tier die Tuberkulose in schwächerer Weise angegangen war. Das Tier wurde erst nach 3 Monaten getötet und zeigte dann eine starke Organtuberkulose.

Es sollten nun weiter die Angaben Bails bezüglich der passiven Uebertragbarkeit der Tuberkulinreaktion nachgeprüft werden, wozu eine große Zahl von Tieren verwandt wurde. Entsprechend der Forderung Bails wurde nur stark tuberkulöses Gewebe von Leber und Milz benutzt, das im Mörser verrieben und durch sterile Leinwand getrieben wurde¹⁾. Die

1) Die in den Tabellen I—III zusammengestellten Versuche wurden mit Hilfe meines Assistenten Dr. Wauschkuhn ausgeführt.

Organemulsion wurde durch Zusatz von 4 ccm Kochsalzlösung auf etwa 16 g Organmasse verdünnt. Diese Emulsion wurde intraperitoneal gesunden Tieren eingespritzt und 17—21 Stunden später auf demselben Wege 0,5 ccm Alttuberkulin gegeben. Zur Kontrolle wurden einige Tiere mit normalem Organbrei vorbehandelt. In mehreren Versuchen geschah die Vorbehandlung mit tuberkulösem Organbrei, der eine Stunde bei 37° mit Alttuberkulin in Berührung gewesen war.

Die mit Organbrei injizierten Tiere zeigten fast durchweg folgende Krankheitserscheinungen, die teils schwerer, teils leichter verliefen. Nach der Injektion sank die Temperatur meist um 2—3°, stieg aber, wenn das Tier am Leben blieb, am anderen Morgen wieder an. Nach der Tuberkulininjektion dann wieder starker Abfall; bei den eingehenden Tieren hielt der Temperaturabfall bis zum Tode an und ging bis auf etwa 34° herunter. Bei den die Tuberkulininjektion überlebenden Tieren fiel die Temperatur oft um 3—4°, stieg aber nach 2—3 Stunden wieder an. In den nachstehenden Tabellen ist bei einzelnen Tieren der Temperaturverlauf angeführt. 1 bis 2 Stunden nach der Organinjektion traten die ersten sichtbaren Krankheitserscheinungen auf; die Tiere fressen nicht und sitzen unbeweglich in eine Ecke gedrückt, die Haare gestäubt, der Bauch sehr druckempfindlich; in schweren Fällen kommt es zu krampfhaften Zuckungen. Ein Teil der Tiere geht schon nach der Organinjektion nach 16—20 Stunden zugrunde. Die überlebenden Tiere haben sich bis zum anderen Morgen fast vollständig wieder erholt, werden munter und fressen. 1—2 Stunden nach der Tuberkulininjektion treten im wesentlichen dieselben Krankheitserscheinungen auf. Bei der Sektion sieht man die Därme stark injiziert, die eingespritzten Organmassen haben sich an das Netz und die Milz dicht angelegt, in der Bauchhöhle befindet sich rötliches Exsudat. Erfolgt der Tod einige Tage später, dann sieht man die Milz deutlich vergrößert. Lungenblähungen wurden in keinem Fall beobachtet. Von allen eingegangenen Tieren wurden aus dem Bauchhöhlenexsudat Kulturen angelegt. War ein Tier an eiteriger Peritonitis eingegangen, so wurde der Versuch nicht verwertet.

Tabelle I.

No.	Gewicht	Organ- injektion intra- peritoneal	Verlauf	Tuber- kulin- injektion		Verlauf	Temperaturmessungen
				Zeit n. l. Inj.	Menge		
1	465	4 ccm normal Organ + 1 ccm NaCl	wird leicht krank, erholt sich aber bis zum andern Morgen voll- ständig	20	0,5	wird leicht krank, er- holt sich wieder u. bleibt am Leben	2 Std. n. Organinj. — 36,5°, n. 4 Std. — 35,7°, am and. Morgen — 36,1°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 35,8°, 2 Std. — 35,5°, 3 Std. — 34,2°, 4 Std. — 35,6°, 5 Std. — 33,6°, 8 Std. — 37,2°
2	445	dasselbe	dasselbe	20	0,5	dasselbe	nach Organinj. u. n. 2 Std. — 37,8°, n. 4 Std. — 35,8°, am and. Morg. — 37,0°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 36,9°, 2 Std. — 38,2°, 3 Std. — 39,3°, 4 Std. — 39,1°, 5 Std. — 38,7°, 8 Std. — 39,2°
3	270	5 ccm normal Organ + 1 ccm NaCl	wird schwer krank, stirbt in der Nacht	.	.	.	nach Organinj. n. 1 Std. — 34,5°, n. 3 Std. — 34,5°
4	445	4 ccm normal Organ + 1 ccm NaCl 0,5 Tuber- kulin*)	wird leicht krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen voll- ständig	20	0,5	dasselbe	nach Organinj. n. 2 Std. — 34,7°, n. 4 Std. 36°, am and. Morgen — 37,5°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 36,6°, 2 Std. — 35,5°, 3 Std. — 36,6°, 4 Std. — 36,7°, 5 Std. — 38,5°, 8 Std. — 37,8°
5	420	dasselbe	dasselbe	20	0,5	„	ähnlicher Verlauf

*) Die Mischung bleibt 1 Std. bei 37° im Brutschrank.

Aus den Versuchen der Tabelle I ersieht man, daß auch normale Organe nicht harmlos für die Meerschweinchen sind; in dem Fall No. 3, bei dem etwas größere Mengen injiziert wurden, kam es sogar zu schweren Krankheitserscheinungen und zum Tode. Die Mischung Organbrei + Alttuberkulin wirkt nicht anders, als der gewöhnliche Organbrei. Die Temperatur sinkt nach der Organinjektion, steigt aber in der Nacht wieder an, ohne daß es zu Fieber kommt. Nach der Tuberkulininjektion beobachtet man zuerst Sinken der Temperatur, nach einigen Stunden aber erhöhte Temperatur.

In Tabelle II sind 35 Versuche zusammengestellt, bei welchen eine Vorbehandlung mit Organbrei von tuberkulösen Meerschweinchen geschah. Bei den Tieren 32—35 wurde der Organbrei mit Tuberkulin versetzt und die Mischung 1 Stunde bei 37° im Brutschrank gehalten, was jedoch gegenüber den

Tabelle II.

Meer- schw. N.	Gew.	Organinjektion intraperitoneal	Krankheitserscheinungen	Tuberkulin- injektion		Folgen	Temperatur- verlauf
				Zeit n. 1. Inj.	Menge		
6 262	3,5	ccm tb. Organ + 1,5 NaCl-Lsg.	wird deutlich krank, Haare gesträubt, Leib druckempfindl., erholt sich vollständig	19	0,5	erkrankt sehr stark, erholt sich aber nach 24 Std., bleibt am Leben	.
7 250		dasselbe	dasselbe	19	0,5	wird sehr krank, erholt sich aber und bleibt am Leben	.
8 245		"	dasselbe	19	0,5	wird sehr schwer krank, erholt sich aber und bleibt am Leben	.
9 240	2,5	ccm tb. Organ + 1,5 NaCl-Lsg.	wird vorübergehend leicht krank, erholt sich vollständig	20	0,5	wird deutlich krank, erholt sich und bleibt am Leben	.
10 220	3,5	ccm tb. Organ + 3,5 NaCl-Lsg.	wird deutlich krank, erholt sich aber dann vollständig	20	0,5	dasselbe	.
11 210	6,0	ccm tb. Organ	wird schwer krank, † nach 18 Std.	.	.	.	.
12 205	4,0	ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg.	wird schwer krank, † in der folgen- den Nacht	.	.	.	.
13 215		dasselbe	dasselbe	.	.	.	.
14 240		"	dasselbe	.	.	.	.
15 235		"	wird sehr krank, erholt sich aber am nächsten Tage vollkommen	20	0,5	wird schwer krank, erholt sich und bleibt am Leben	.
16 230		"	wird schwer krank, † in der fol- genden Nacht	.	.	.	.
17 220	4,0	ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg.	wird sehr krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen vollkommen	21	0,5	wird sehr schwer krank, stirbt unter Temperatursturz nach 10 Std.	.
18 220		dasselbe	wird leicht krank, am nächst. Morgen vollkommen gesund	21	0,5	wird typisch krank, erholt sich und bleibt am Leben	.
19 235		"	dasselbe	—	—	bleibt am Leben	.
20 263	4,0	ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg.	wird schwer krank u. † nach 19 Std.	.	.	.	.
21 310		dasselbe	wird vorübergehend krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen	20	0,5	wird typisch krank, erholt sich und bleibt am Leben	.
22 273		"	dasselbe	20	0,5	dasselbe	.
23 330		"	dasselbe	20	0,5	dasselbe	.

Tabelle II (Fortsetzung).

Meer- schw. No.	Organinjektion intraperitoneal	Krankheitserscheinungen	Tuberkulin- injektion		Folgen	Temperaturverlauf
			Zeit n. 1. Inj.	Menge		
24 370	4,0 ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg.	wird vorübergehend krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen	20	0,5	wird schwer krank, † nach 3 1/2 Std.	.
25 435	dasselbe	wird vorübergehend krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen	20	0,5	wird schwer krank, erholt sich und bleibt am Leben	nach Organinj.: n. 2 Std. — 36,9°; n. 4 Std. — 36,3°, am and. Morg. — 38,3°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 36,7°, 2 Std. — 36,1° 3 Std. — 37,5°, 4 Std. — 36,4° 5 Std. — 37,5°, 8 Std. — 38,3° 10 Std. — 39,0°, 14 Std. — 38,0°; 26 Std. — 38,4°
26 365	"	dasselbe	20	0,5	dasselbe	.
27 360	"	dasselbe	20	0,5	dasselbe	nach Organinj.: n. 2 Std. — 35,8°; n. 4 Std. — 35,0°, am and. Morg. — 37,5°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 36,0°, 2 Std. — 36,1° 3 Std. — 35,9°, 4 Std. — 36,5° 5 Std. — 37,0°, 8 Std. — 38,3° 10 Std. — 39,0°, 14 Std. — 37,4°; 26 Std. — 38,4°
28 325	5,0 ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg.	wird schwer krank, erholt sich aber bis zum näch- sten Morgen vollkommen	17	0,6	wird sehr schwer typisch krank, erholt sich nicht mehr, † nach 52 Std.	.
29 315	dasselbe	wird schw. kr., † n. 16 Std.	.	.	.	.

Tabelle II (Fortsetzung).

Meer- schw. No.	Organinjektion intraperitoneal	Krankheitserscheinungen	Tuberkulin- injektion		Folgen	Temperaturverlauf
			Zeit n. 1. Inj.	Menge		
30	5,0 ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg.	wird sehr schwer krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen voll- ständig	17	0,6	wird schwer krank und stirbt unter Temperatur- sturz nach 8 1/2 Std.	.
31 320	dasselbe	wird schwer krank, † nach 17 Std.	.	.	.	.
32 375	4,0 ccm tb. Organ + 1,0 NaCl-Lsg. + 0,5 Alt-tuberkulin	wird vorübergehend krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen voll- ständig	20	0,5	wird schwer krank und stirbt unter Temperatur- sturz nach 6 Std.	nach Organinj.: n. 2 Std. — 35,2°; n. 4 Std. — 35,7°, am and. Morg. — 35,5°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 34,8°, 2 Std. — 34,0°; 3 Std. — 33,5°, 4 Std. — 33,5°; 5 Std. — 33,5°
33 390	dasselbe	dasselbe	20	0,5	wird schwer krank, erholt sich und bleibt am Leben	nach Organinj.: n. 2 Std. — 37,8°; n. 4 Std. — 38,3°, am and. Morg. — 37,8°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 35,4°, 2 Std. — 35,2°; 3 Std. — 37,4°, 4 Std. — 38,4°; 5 Std. — 38,3°, 8 Std. — 38,1°; 10 Std. — 38,3°, 14 Std. — 37,5°; 26 Std. — 37,5°
34 600	"	dasselbe	20	0,5	dasselbe	.
35 475	"	dasselbe	20	0,5	wird schwer krank und stirbt unter Temperatur- sturz nach 10 Std.	.

anderen Tieren keinen Unterschied ergab. Nach der nach 20 Stunden erfolgten Tuberkulininjektion gingen von diesen Tieren 2 ein, 2 blieben am Leben. Die tuberkulösen Organe scheinen für gesunde Meerschweinchen noch bedeutend giftiger zu sein, als normale Organe. So gingen von den 31 Tieren, die mit Organbrei vorbehandelt waren, 8 Tiere innerhalb 20 Stunden ein, aber auch von den anderen Tieren zeigten sämtliche Krankheitserscheinungen, die vorübergehender Natur waren, und bis zum anderen Morgen wieder vollständig verschwanden. Von den 23 überlebenden Tieren gingen nach der Tuberkulininjektion nur 4 ein; die übrigen wurden fast durchweg schwer krank, erholten sich aber wieder und blieben am Leben. Der Tod erfolgte bei diesen dann meist nach 1—4 Wochen. Der Temperaturverlauf sowohl nach der Injektion des Organbreis wie nach der des Tuberkulins läßt keine allgemeingültigen Schlüsse zu und unterscheidet sich nicht wesentlich von den in Tabelle I aufgeführten Tieren.

Es wurde dann noch ein Versuch angestellt mit Organen von tuberkulösen Tieren, die durch intraperitoneale Injektion

Tabelle III.

No.	Gewicht	Organ- injektion	Krankheits- erschei- nungen	Tuber- kulin- injektion		Folgen	Temperaturverlauf
				Zeit n. 1. Inj.	Menge		
36	236	4 ccm tub. Org. + 1,0 ccm NaCl	wird deutlich krank, erholt sich aber bis zum nächsten Morgen vollständig	20	0,5	wird schwer krank, stirbt nach 16 Std.	nach Organinj.; n. 4 Std. — 35,5°, n. 6 Std. — 34,1°, am and. Morg. — 38,7°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 36,6°, 2 Std. — 34,2°, 3 Std. — 34,6°, 4 Std. — 35,5°, 5 Std. — 34,1°, 11 Std. — 34,8°
37	250	dasselbe	dasselbe	20	0,5	wird sehr krank, stirbt nach 9 Std.	.
38	288	"	"	20	0,5	wird schwer krank, erholt sich aber und bleibt leben	nach Organinj.: n. 4 Std. — 34,8°, n. 6 Std. — 36,0°, am and. Morg. — 38,7°, nach Tuberkulin: n. 1 Std. — 36,4°, 2 Std. — 35,2°, 3 Std. — 38,4°, 4 Std. — 38,2°, 5 Std. — 38,1°, 11 Std. — 39,1°
39	275	"	wird schwer krank und stirbt nach 18 Std.	.	.	.	.

von 0,8 ccm Alttuberkulin getötet waren. Die Organe wurden sofort nach eingetretenem Tode herausgenommen und verarbeitet. Wenn eine Verbindung mit tuberkulösem Zellgewebe möglich wäre, oder die Bildung eines Giftes aus dem tuberkulösen Gewebe oder dem Tuberkulin erfolgen würde, so müßte man diese innerhalb des lebenden Körpers erwarten. Die Wirkung hätte dann bei der Einspritzung dieses Organbreies bei den gesunden Tieren sofort zutage treten müssen. Wie uns aber Tabelle III zeigt, ist das nicht der Fall. Die Tiere werden schwer krank, unterscheiden sich aber nicht von den Tieren der Tabelle II. Ein Tier geht ein, aber auch erst nach 18 Stunden. Die nach 20 Stunden injizierte Tuberkulindosis führt bei 2 Tieren zum Tode; das dritte wird typisch krank, erholt sich aber wieder und bleibt am Leben.

Die in Tabelle I—III aufgeführten Versuche sprechen nicht für eine passive Uebertragbarkeit der Reaktionsstoffe, welche die Tuberkulinreaktion bedingen. In Bestätigung der Untersuchungen von Kraus, Löwenstein und Volk, sowie Neufeld und Dold fanden auch wir, daß schon bei normalen Tieren derartige große Organmengen, wie sie Bail übertragen hat, eine recht beträchtliche krankmachende Wirkung haben. Daß die tuberkulösen Organe stärker wirken, ist wohl erklärlich; durch die Untersuchungen von Matthes¹⁾ wissen wir, daß in tuberkulösen Herden ein Abbau von Eiweiß eintritt, und daß diese Eiweißabbaustoffe Krankheitserscheinungen hervorrufen können. Die bei der späteren Tuberkulininjektion nochmals eintretenden Krankheitserscheinungen, auch den Tod, könnte man sich in der Weise zustande gekommen denken, daß die eingespritzte Tuberkulinmenge auf das in der Bauchhöhle liegende tuberkulöse Zellmaterial einwirkt und hier einen weiteren Abbau von Eiweiß verursacht. Mit einer passiven Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit hätte aber auch dieser Vorgang nichts zu tun, da ja nicht das fremde Tier überempfindlich für Tuberkulin geworden wäre, sondern nur durch Resorption anderen Ortes hergestellter Stoffe geschädigt würde.

1) Matthes, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 54.

Mehr Anhänger als die Antikörpertheorie im Sinne der von Wassermann und Bruck, Wolff-Eisner u. a. vertretenen Anschauungen hat die Auffassung gewonnen, daß es sich bei der Tuberkulinreaktion um einen anaphylaktischen Vorgang handelt. Daneben spielt noch die Albumosen- und Proteinkörpertheorie eine Rolle, die davon ausgeht, daß die Tuberkulinreaktion überhaupt keine spezifische Reaktion sei, sondern daß sie lediglich auf der Wirkung von unspezifischen Eiweißabbauprodukten beruht, die auf den tuberkulösen Organismus empfindlicher als auf den normalen einwirken. Als einer der ersten konnte Matthes, später in Verbindung mit Krehl¹⁾, zeigen, daß Deuteroalbumosen, in geringen Mengen tuberkulösen Meerschweinchen eingespritzt, den Tod der Tiere verursachen. In gleicher oder noch stärkerer Weise wirkte echtes Pepton im Sinne Kühnes. Gesunde Meerschweinchen reagierten nur bei größeren Dosen dieser Präparate. Bemerkenswerterweise konnten Tiere durch vorhergehende untötliche Mengen gegen die tödlichen geschützt werden. Krehl beobachtete auch, daß tuberkulöse Meerschweinchen nach Injektion von steriler Milch eingingen. Bei gesunden Tieren trat Temperaturerhöhung, bei tuberkulösen Tieren nach untötlichen Dosen Fieber, bei tödlichen starker Temperaturabfall ein. Bei der Sektion zeigten sich Entzündungserscheinungen an den tuberkulösen Herden (Herdreaktion). Matthes glaubt deshalb, daß die Tuberkulinreaktion wenigstens zum Teil eine Wirkung der Albumosen sei. Die Untersuchungen von Matthes und Krehl wurden aber durch Matthes' Schüler Kirchheim und Tuczek²⁾ später wesentlich eingeschränkt. Ich muß auf diese etwas näher eingehen, da die Untersuchungen von Matthes und seinen Schülern über die Albumosenwirkung bei tuberkulösen Tieren die Grundlage für die Proteinkörperreaktion und -therapie bilden, die neuerdings durch Schmidt³⁾ eifrig vertreten wird. Besonderes Interesse haben für uns die intravenösen Einspritzungen der Versuche von Kirchheim und Tuczek. Durch eine 10-proz. Deuteroalbumosenlösung

1) Krehl und Matthes, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 36.

2) Kirchheim und Tuczek, ebenda, Bd. 77.

3) Schmidt, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 131.

wurden gesunde Meerschweinchen bei einer Dosis bis herunter zu 1,2 ccm unter den typischen Erscheinungen eines anaphylaktischen Shoks nach wenigen Minuten getötet. Pepton war noch etwas giftiger, wirkte aber sonst in gleicher Weise. Bei tuberkulösen Tieren waren noch Dosen bis herunter zu 0,6 ccm tödlich; der Tod erfolgte aber nur bei den größeren auch für das gesunde Tier akut tödlichen Mengen sofort, bei den geringeren erst nach 28 Stunden und länger. Die Empfindlichkeit der tuberkulösen Tiere gegenüber den Albumosen war also nur unerheblich gesteigert. Die Sektion erwies bei diesen Tieren im Vergleich zu den durch Tuberkulin getöteten insofern ein verschiedenes Bild, als die Lokalreaktion (verstanden wird hier Herdreaktion am tuberkulösen Herd) bei der Albumosenvergiftung nur inkonstant aufgetreten war und auffallende graduelle Unterschiede zeigte. Man wird nach diesen Erscheinungen die Albumosenvergiftung kaum noch mit der Tuberkulinreaktion in Parallele setzen können. Schmidt geht im wesentlichen von der Herd- und Allgemeinreaktion bei tuberkulösen Kranken aus und schließt aus dem Auftreten von Entzündungserscheinungen am tuberkulösen Erkrankungs-herd auf die fast vollkommene Kongruenz, welche hinsichtlich der klinischen Reaktionskomplexe nach Milch- und Tuberkulininjektionen bestehe. Beide, sowohl die Allgemeinreaktion wie die Herdreaktion des Kranken, sind aber längst als unspezifische Vorgänge bekannt und können zum Beweis nicht herangezogen werden. Viel sicherer ist beim Menschen die Lokalreaktion auf oder in der Haut. Diese soll sich nach Schmidt Milch gegenüber auch gleich verhalten, wobei er allerdings damit rechnet, daß eine Umstimmung des Hautgewebes gegen Tuberkulin, Milch und andere Eiweißkörper gerichtet, gelegentlich auch aus anderen Gründen, die mit einer Tuberkuloseinfektion nichts zu tun haben, sich ergeben könnte. Er beruft sich auf Sörgo¹⁾, der eine unspezifische Allergie angenommen habe. Sörgo hat dieses jedoch nicht in dem von Schmidt ausgelegten Sinne gemeint; er bekam eine positive Intrakutanreaktion bei Injektionen von Diphtherie- und Dysenterietoxin, aber nur bei mit Tuberkulose infizierten Menschen, und betont

1) Sörgo, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 22.

ausdrücklich, daß nicht tuberkulös Infizierte weder auf Tuberkulin noch diese Toxine reagiert haben. S o r g o zweifelt also keineswegs an der Spezifität der Tuberkulinreaktion, glaubt nur, daß diese Reaktion auch durch andere Körper hervorgerufen werden könne. Lüdke und Sturm¹⁾ erhielten bei Verwendung von Typhusbazillen-, Dysenteriebazillen- und Streptokokkenextrakt bei tuberkulösen Menschen niemals eine positive Kutanreaktion; dieselben Patienten zeigten auch selbst auf Dosen bis zu 100 mg, die von diesen Extrakten eingespritzt wurden, weder Fieber noch Herdreaktion. Weihrauch²⁾ prüfte bei 23 tuberkulösen Patienten das Verhalten der Konjunktivalreaktion nach Einträufelung von 10-proz. Deuteroalbumosenlösung, sah aber nur in einem einzigen Falle eine schwache Reaktion. Das Aufflammen oder Eintreten der Reaktion bei nachfolgender subkutaner Injektion von Albumosen wurde nie beobachtet. Gegen die Anwendung der Kutanreaktion kann man vielleicht einwenden, daß sie nicht empfindlich genug ist; einwandfreier für Zwecke vergleichender Prüfung ist sicherlich die Intrakutanreaktion. Neuerdings gibt Klemperer³⁾ an, daß er durch Milchinjektionen bei tuberkulösen Patienten überhaupt keine Intrakutanreaktion erhalten habe; ein Aufflammen ablassender Pirquets wurde nach Milchinjektionen nie beobachtet.

Die Albumosen- oder Proteinkörperreaktion gehört wohl zweifellos in das Gebiet der Anaphylaxie. Bei der Untersuchung der Frage nun, ob die Tuberkulinreaktion als Anaphylaxiereaktion aufzufassen sei, bedient man sich am besten der intravenösen Einspritzung des zu prüfenden Materiales bei tuberkulösen Meerschweinchen, und der intrakutanen Anwendung beim Menschen. Die intrakutane Injektion beim Meerschweinchen ist zwar sowohl bei der Tuberkulose als bei der Anaphylaxie empfohlen worden. Ich selbst war früher auch davon überzeugt, daß sie für den tuberkulösen Meerschweinchenversuch eine große diagnostische Bedeutung hätte, habe aber inzwischen auf Grund zahlreicher Meerschweinchenversuche erkennen können, daß sie nur eine verhältnismäßig

1) Lüdke und Sturm, Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 37.

2) Weihrauch, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 30.

3) F. Klemperer, Berl. klin. Wochenschr., 1920, No. 45.

grobe Reaktion ist, die erst bei vorgeschrittener Organtuberkulose auftritt, und auch dann nicht gleichmäßig verläuft. Die intravenöse Verabreichung des Tuberkulins ist zweifellos eine viel empfindlichere Methode zum Nachweis einer tuberkulösen Infektion beim Meerschweinchen. So zuverlässig wie die intrakutane Injektion am Menschen ist sie aber auch nicht, wie die in Tabelle V aufgeführten Versuche beweisen.

Es sollte zuerst an tuberkulösen Tieren geprüft werden, wie sie bei fallenden Mengen von Alttuberkulin und anderen Tuberkulinpräparaten reagieren. Von großer Wichtigkeit ist bei den hier verwandten Tieren natürlich der Sektionsbefund, der uns wohl allein angibt, wie weit die Tuberkulose bei dem Tier vorgeschritten, und ob eine solche überhaupt zu erkennen war. Bekanntlich ist eine angehende Tuberkuloseinfektion beim Meerschweinchen außerordentlich schwer festzustellen, zumal selbst bei subkutaner Injektion Drüenschwellungen fehlen können, und oft nur eine Vergrößerung der Milz als einziges pathognomisches Symptom für Tuberkulose spricht. Die Tiere, welche die Tuberkulininjektion überlebten und keine Krankheitserscheinungen zeigten, wurden dann getötet. Der Sektionsbefund ist in den folgenden Tabellen vorangestellt, da er für den Ausgang der Tuberkulininjektion entscheidend ist. Die verwandten Tiere waren zum größten Teil für andere Zwecke vor einer Reihe von Monaten mit geringen Mengen humaner Bazillen infiziert.

Bei keinem der Tuberkulintiere traten Krämpfe oder Lähmungen auf; die Tiere zeigten überhaupt nur geringe Krankheitserscheinungen; anfangs waren sie ganz munter, später saßen sie still, ohne zu fressen. Der Tod erfolgte erst nach einigen Stunden. Bei der Sektion wurde niemals eine Lungenblähung beobachtet. Bei Kirchheim und Tuzek ging ein tuberkulöses Meerschweinchen nach Einverleibung von 0,5 ccm Alttuberkulin nach $4\frac{1}{2}$ Stunden ein. Wenn man sieht, daß in meinen Versuchen 0,005, also der hundertste Teil von 0,5 ccm Alttuberkulin noch prompt tödlich wirkt, dann hätte man erwarten können, daß, falls die Tuberkulinvergiftung mit der Anaphylaxie- oder Albumosenvergiftung identisch wäre, auf große Dosen des Alttuberkulins ein akuter Tod unter den Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks

Tabelle IV.
Tuberkulininjektion bei stark tuberkulösen Meer-
schweinchen.

No.	Gew. b. Tode	Sektions- befund	Intravenös injizierte Tuberkulin- menge	Verlauf	Temperaturverlauf nach Injektion
1	510	starke Organ- tuberkulose	0,33 ccm Alttuberkulin	† n. 9 Std.	nach $\frac{3}{4}$ Std.: — 36,3°, n. 2 Std. — 39,4°, n. 5 Std. — 37,8°, n. 7 Std. — 35°
2	465	dasselbe	0,2 ccm Alttuberkulin	† n. 6 Std.	.
3	450	„	0,1 ccm Alttuberkulin	† n. 14 Std.	nach $1\frac{1}{2}$ Std.: — 36,9°, n. 4 Std. — 38,2°, n. 7 Std. — 36,5°
4	375	„	0,02 ccm Alttuberkulin	† n. 11 Std.	.
5	320	„	0,005 ccm Alttuberkulin	† n. 11 Std.	.
6	385	„	1 mg lebende, wenig virulente, humane Bazillen	† n. $6\frac{1}{2}$ Std.	nach 10' — 34,9°, n. $1\frac{1}{2}$ Std. — 39,0°, n. $4\frac{1}{2}$ Std. — 38,7°, n. 6 Std. — 35,7°
7	550	„	0,2 mg lebende, wenig virulente, humane Bazillen	† n. 24 Std.	nach 5' — 38,5°, n. 2 Std. — 39,3°, n. 6 Std. — 37,7°
8	470	„	0,1 ccm Neu- tuberkulin Koch	keine Wirkung	.
9	450	„	1 mg lebende Friedmannbaz.	dasselbe	nach 5' — 35,1°, n. $2\frac{1}{2}$ Std. — 38,3°, n. 6 Std. — 35,1°
10	550	„	0,5 ccm Friedmann- tuberkulin ¹⁾	„	nach 1 Std.: — 36,4°, n. 3 Std. — 40,6°, n. 7 Std. — 39,6°
11	500	„	0,5 ccm auf $\frac{1}{10}$ bei 80° einge- engte Glycerin- bouillon	„	nach 10' — 36,7°, n. 2 Std. — 39°, n. 6 Std. — 36,4°

eingetreten wäre. Größere Mengen als 0,5 wurden nicht angewandt, da nach den Untersuchungen von Kirchheim und Tuzcek Gaben von 1 ccm schon das gesunde Tier schwer schädigen, was diese Forscher auf den Glyceringehalt zurückführen konnten. Insofern ist überhaupt das Alttuberkulin für

1) 14-tägige Glycerinbouillon mit Friedmannbazillen wurde 1 Stunde bei 60° im Wasserbad extrahiert, dann filtriert und bei 80° auf den 10. Teil eingeeengt.

unsere Versuche nicht ganz einwandfrei, weil darin Glyzerin und die Eiweißstoffe der Bouillon vorhanden sind, welche in größeren Mengen störend wirken können. Auch kennt man nicht die Menge der spezifisch wirkenden Tuberkulinstoffe, und kann infolgedessen nicht genau auf diese dosieren. Besser sind in der Beziehung die Tuberkelbazillen selbst, die in unseren Versuchen von dem Rasen einer eiweißfreien Kulturflüssigkeit (Salzlösung nach Lockemann) nach Abpressen der Flüssigkeit genommen wurden. 1 mg, ja sogar noch 0,2 mg einer nur wenig virulenten humanen Kultur verursachten den Tod unter denselben Erscheinungen. Friedmannbazillen und ein aus diesen Bazillen hergestelltes Tuberkulin, ferner ungeimpfte eingeeengte Glyzerinbouillon waren wirkungslos. Die Messung der Temperaturen ergab keinen besonders typischen Verlauf. Kurz nach der Injektion des Tuberkulins sank die Temperatur etwas, stieg dann nach einiger Zeit wieder an, um vor dem Tode nochmals zu sinken, aber nicht bis auf Kollapstemperaturen (Me. No. 6). Auch hierdurch unterschieden sich die vorliegenden Versuche von der Albumosenvergiftung.

Zum Beweis, daß die intravenöse Einspritzung des Alttuberkulins nicht jede tuberkulöse Infektion der Meerschweinchen erkennen läßt, seien in Tabelle V noch einige Versuche aufgeführt von Meerschweinchen, die etwa 6 Monate vorher mit einer kleinen Menge wenig virulenter humaner Bazillen subkutan infiziert waren. Obwohl deutliche Zeichen einer angegangenen Infektion vorhanden waren, ergab die Tuberkulininjektion doch keine Wirkung. Das Meerschweinchen scheint sich demnach ganz anders zu verhalten als der Mensch, bei dem schon eine geringe Infektion, die nicht zu sichtbaren Krankheitserscheinungen zu führen braucht, eine Umstimmung seines ganzen Körpergewebes hervorruft, die sich schon bald nach der Infektion durch eine positive Tuberkulinreaktion zu erkennen gibt. Auch der Verlauf der tuberkulösen Infektion des Meerschweinchens ist wesentlich verschieden von der des Menschen, wie ich in jahrelangen Untersuchungen über die Immunitätsverhältnisse der Tuberkulose des Meerschweinchens immer deutlicher erkannt habe.

Um über die Natur der im Tuberkulin wirksamen Stoffe weiter Aufschluß zu erhalten, wurden stark tuberkulöse Meerschweinchen mit Alttuberkulin behandelt, das verschiedenen Temperaturen ausgesetzt war. Es wurde zu diesem Zwecke Alttuberkulin 1:2 mit Kochsalzlösung verdünnt, 10 Minuten in kochendes Wasser gebracht, ferner im Autoklaven auf

Tabelle V.
Wirkung des Alttuberkulins auf schwach tuberkulöse
Meerschweinchen.

No.	Gew. b. Tode	Sektionsbefund	Gewicht der Milz	Intra- venös injiziertes Alt- tuberkulin	Verlauf
12	600	Injektionsstelle nichts. Ing.-Drüsen beiderseits hirsenkorngroß. Leber ohne Befund. Milz keine Knötchen. Lunge 4 kleine Perlknötchen. Bronch.-Dr. nicht vergrößert	0,8 g	0,5 ccm	keine Wirkung
13	470	Injektionsstelle nichts. Ing.-Drüsen r. bohnen- u. l. erbsengroß. An innern Organen kein Befund	0,4 g	0,5 „	dasselbe
14	410	Injektionsstelle vernarbt. Ing.-Drüse r. linsengroß. Leber ein Eiterknötchen, Lunge 3 kleine Perlknötchen. Bronch.-Dr. klein	0,8 g	0,5 „	abends krank, erholt sich in der Nacht
15	390	Injektionsstelle nichts. Ing.-Drüsen klein. Lunge vereinzelte kleine Perlknötchen. Bronch.-Dr. klein	0,7 g	0,2 „	† n. 6 Std.
16	420	Unter Bauchhaut kleines Eiterknötchen. Ing.-Drüsen beiderseits klein. Lunge 3 kleine graue Knötchen. Bronch.-Dr. klein	0,8 g	0,2 „	keine Wirkung
17	600	Injektionsstelle nichts. Ing.-Drüsen beiderseits hirsenkorngroß. Lunge ein kleines graues Knötchen. Bronch.-Dr. klein	0,8 g	0,2 „	dasselbe
18	375	Injektionsstelle nichts. Ing.-Drüsen l. erbsen-, r. hirsenkorngroß. Lunge an beiden Oberlappen mit Pleura verwachsen, sonst keine Veränderungen	0,4 g	0,2 „	„

110°, 120° und 150° erhitzt. Durch Maximumthermometer wurde bestätigt, daß die gewünschte Temperatur auch in dem Tuberkulin erreicht war.

Man sieht aus den in Tabelle VI zusammengestellten Versuchen, daß selbst eine Erhitzung auf 150° das Tuberkulin kaum schädigt. Diese Widerstandsfähigkeit der wirksamen Substanz des Tuberkulins spricht nicht dafür, daß es sich bei der Tuberkulinreaktion um eine Reaktion nach Art der anaphylaktischen handelt. Zwar sollen sich durch erhitztes Eiweiß Tiere sensibilisieren lassen. Dagegen kann nach Besredka

23*

Tabelle VI.

Wirkung bei verschiedenen Graden erhitzten Alttuberkulins
auf stark tuberkulöse Meerschweinchen.

No.	Gewicht beim Tode	Sektions- befund	Intravenös injizierte Tuberkulin- menge	Verlauf	Temperaturverlauf
19	415	starke Organ- tuberkulose	0,33 ccm 10' 100°	† n. 3½ Std.	nach ½ Std. — 35°, n. 2 Std. — 34,9°
20	390	deutliche Organ- tuberkulose	0,2 ccm 10' 100°	† n. 6 Std.	.
21	420	starke Organ- tuberkulose	0,1 ccm 10' 100°	† n. 5 Std.	nach ½ Std. — 37,7°, n. 3 Std. — 36,2°
22	330	dasselbe	0,02 ccm 10' 100°	† n. 11 Std.	.
23	500	„	0,005 ccm 10' 100°	abds. krank, erholt sich wieder	.
24	320	schwache Organ- tuberkulose	0,33 ccm 10' 110°	† in der Nacht	.
25	320	deutliche Organ- tuberkulose	0,33 ccm 10' 120°	keine Wirkg. am selben Tage; stirbt nach 2 Tgn.	.
26	250	dasselbe	0,33 ccm 10' 120°	† n. 3 Std.	.
27	325	„	0,33 ccm 10' 120°	† n. 4 Std.	nach ½ Std. — 34,9°, n. 2 Std. — 36,6°
28	300	„	0,33 ccm 10' 150°	† n. 4 Std.	nach ½ Std. — 36,8°, n. 2 Std. — 37,7°

die Auslösung der anaphylaktischen Reaktion nur durch thermolabile Stoffe erfolgen, eine Anschauung, welcher Friedberger beipflichten muß, obwohl er sich sonst gegen die Trennung des Eiweißes in zwei Komponenten, eine thermostabile sensibilisierende und eine thermolabile auslösende, ausspricht.

Es seien dann noch einige Versuche über die Einspritzung von Milcheiweißpräparaten angeführt. Da die Tiere nicht reagierten, wurde ihnen nach 2 Tagen Alttuberkulin intravenös eingespritzt, um zu sehen, ob die Tiere durch die vorhergehende Behandlung gegen die tödliche Dosis Tuberkulin geschützt seien, wie Matthes beobachtet hatte. Zum Vergleich wurden Tiere mit untertödlichen Dosen Alttuberkulin vor-

behandelt und diesen nach 2 und 1 Tag die tödliche Dosis verabreicht.

Me. No. 29. 300 g, deutliche Organtuberkulose, erhält intraperitoneal 2 ccm 10' gekochte Milch. Keine Wirkung. Nach 2 Tagen intravenös 0,2 ccm Alttuberkulin. Stirbt nach 5 Stunden.

Me. No. 30. 265 g, deutliche Organtuberkulose, erhält intravenös 1 ccm Caseosan. Keine Wirkung. Nach 2 Tagen intravenös 0,2 ccm Alttuberkulin. Stirbt nach 5 Stunden.

Me. No. 31. 295 g, deutliche Organtuberkulose, erhält intravenös 0,2 mg lebende schwach virulente humane Bazillen. Keine Wirkung. Nach 2 Tagen intravenös 0,3 ccm Alttuberkulin. Stirbt in der Nacht.

Me. No. 32. 310 g, geringe Organtuberkulose (Milz 0,5 g, Lunge vereinzelte kleine Perlknötchen, Ing.-Drüsen rechts erbsengroß, sonst kein Befund), erhält intravenös 0,2 mg lebende schwach virulente humane Bazillen. Keine Wirkung. Nach 2 Tagen intravenös 0,1 ccm Alttuberkulin. Stirbt nach 12 Stunden.

Me. No. 33. 470 g, starke Organtuberkulose, erhält intravenös 0,1 ccm Neutuberkulin-Koch. Keine Wirkung. Nach 1 Tag intravenös 0,1 ccm Alttuberkulin. Stirbt nach 11 Stunden.

Unsere Untersuchungen können zu folgenden Schlüssen führen:

1) Die nach der Injektion von Tuberkulin bei tuberkulösen Meerschweinchen auftretenden Vergiftungserscheinungen entsprechen nicht der Anaphylaxie- und Albumosenvergiftung.

2) Die Tuberkulinreaktion ist spezifisch und läßt sich schon durch sehr kleine Mengen Tuberkulin auslösen¹⁾, dagegen nicht durch Friedmannbazillen²⁾, eingeeengte Bouillon und Milchpräparate.

3) Untertödliche Dosen Tuberkulin, ebenso Proteinkörper üben keine schützende Wirkung aus.

1) Die Annahme von Sörgo, daß bei tuberkulös infizierten Menschen eine Tuberkulinreaktion auch durch erhitztes Diphtherie- und Dysenterietoxin ausgelöst wird, konnte im Tierversuch nicht nachgeprüft werden, da diese Gifte bei intravenöser Injektion schon gesunde Tiere in kleinen Mengen töten. Bessau gibt aber an, daß nach seinen Versuchen die mit irgendwelchen bakteriellen Giften erzeugte Lokalreaktion sich dadurch von der Tuberkulinreaktion unterscheidet, daß sie bei späterer Einspritzung von Tuberkulin nicht aufflammt.

2) s. Selter, Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 24.

Das Fehlen einer Katanaphylaxie spricht ebenfalls gegen Anaphylaxie und Albumosenreaktion. Zwar hat P. Th. Müller¹⁾ tuberkulöse Meerschweinchen durch untertödliche Dosen Alt-tuberkulin und 10-proz. „Witte“-Peptonlösung schützen können. Diese Beobachtungen stehen aber mit denen anderer Forscher und den Erfahrungen am Menschen (s. unten Bessau) so in Widerspruch, daß man wohl über sie hinwegsehen darf. Die Tuberkulinreaktion gehört also nicht in das Gebiet der Anaphylaxie und ist überhaupt nicht als Antikörperreaktion aufzufassen.

Zu demselben Schluß kommt Bessau²⁾ auf Grund seiner intrakutanen Prüfung an tuberkulös infizierten Kindern. Er hat in vorbildlichen Versuchen an demselben Menschen zu gleicher Zeit wiederholt Einspritzungen von Tuberkulin und Rindereserum vorgenommen. Es zeigte sich hierbei, daß die Serumüberempfindlichkeit sehr bald erlischt (Katanaphylaxie), während die Tuberkulinreaktion erhalten blieb. Daß nach immer wiederholten und steigenden Tuberkulindosen allmählich eine Unempfindlichkeit eintritt (bekanntlich das Ziel der Tuberkulintherapie), ist eine andere Frage, die hier jetzt nicht erörtert werden soll. Ein weiterer Unterschied bestand nach Bessau darin, daß die lokalen Tuberkulinreaktionen auf erneute Zufuhr von Tuberkulin aufflammten, die Serumreaktion bei Serum- und Tuberkulininjektion dagegen niemals. Bessau folgert aus seinen Untersuchungen, daß eine einheitliche Genese der beiden Ueberempfindlichkeitsphänomene so gut wie ausgeschlossen sei.

Zu berücksichtigen ist noch, daß es eine Tuberkelbazillen-eiweißanaphylaxie gibt, die durch Einspritzung von größeren Mengen Tuberkelbazillen zustande kommt und von Friedberger und Mita³⁾, Doerr⁴⁾, Neufeld und Dold⁵⁾ und anderen Forschern untersucht worden ist. Diese muß, wie auch Bessau hervorhebt, streng von der Tuberkulinüber-

1) P. Th. Müller, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8.

2) Bessau, Jahrb. f. Kinderheilkunde, Bd. 81, 1915.

3) Friedberger und Mita, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, p. 477.

4) Doerr, Allergie und Anaphylaxie im Handbuch der pathogenen Mikroorg. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl., Bd. 2, p. 947.

5) Dold, l. c.

empfindlichkeit unterschieden werden, da sie ganz den Gesetzen der Bakterienanaphylaxie folgt. Ihre Erscheinungen berühren sich in manchen Punkten, und hierauf ist zurückzuführen, daß die Phänomene so oft durcheinander geworfen und verwechselt wurden. So müssen meines Erachtens auch die Versuche von Sata¹⁾, der durch Vermischen von Antituberkuloseserum vom Pferde und Alttuberkulin bei gesunden Meerschweinchen durch intravenöse Injektion Tod und typische anaphylaktische Erscheinungen (Shock, Lungenblähungen) erhielt, in das Gebiet der Anaphylaxie gerechnet werden; auch die von ihm erzeugte passive Uebertragbarkeit der Tuberkuloseüberempfindlichkeit durch Pferdetuberkuloseserum ist anscheinend nichts anderes, worauf schon die von Sata aufgeführten Erscheinungen — stürmischer Temperaturabfall, heftige Krämpfe, plötzlicher oder innerhalb einiger Stunden eintretender Tuberkulintod (gemeint ist wohl Lungenblähung) — hindeuten.

Unsere und Bessaus Untersuchungen berechtigen zu dem Schluß, daß die Tuberkulinreaktion keine Antikörperreaktion ist und mit der Anaphylaxie und Albumosenreaktion nichts zu tun hat. Bevor ich nun darauf eingehe, als was wir die Tuberkulinwirkung auffassen können, muß ich noch einen Punkt besprechen, der für die Immunitätsverhältnisse der Tuberkulose von größter Wichtigkeit ist. Auch ich vertrete, wie Hamburger, Römer, Klemperer u. a., den Standpunkt, daß die Tuberkulinempfindlichkeit mit den Immunitätsverhältnissen der Tuberkulose beim Menschen in unmittelbarstem Zusammenhang steht, und daß das Auftreten der Tuberkulinempfindlichkeit nach erfolgter Infektion Tuberkuloseschutz bedeutet. Bisher war man allgemein der Ansicht, daß im menschlichen Körper die Umstimmung des Gewebes, deren Ausdruck die positive Tuberkulinreaktion ist, der allergische Zustand nach v. Pirquet, nur durch die Wirkung von virulenten lebenden Tuberkelbazillen erworben werden kann. Diese Ansicht könnte durch neuere Untersuchungen erschüttert erscheinen, in denen es gelungen sein soll, auch durch Einspritzung von toten Tuberkelbazillen eine Ueberempfindlichkeit

1) Sata, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, p. 62, 75, 84.

zu erzielen. Wenn es sich um eine wirkliche Tuberkulinüberempfindlichkeit handeln sollte, so würden diese Versuche eine ungeheuere Bedeutung haben, da sie den Weg einer aktiven Immunisierung des Menschen gegen Tuberkulose weisen könnten. Alttuberkulin wirkt nicht als Antigen und vermag infolgedessen im Körper auch keine Immunisierung herbeizuführen; darin sind alle Forscher wenigstens einig. Dagegen wollen Much und Leschke¹⁾ bei Meerschweinchen, die mit dem Filtrat einer Tuberkelbazillenauflösung vorbehandelt waren, eine durch die Intrakutanreaktion erkenntliche Tuberkulinüberempfindlichkeit beobachtet haben. Meerschweinchen, die mit allen in den aufgelösten Tuberkelbazillen enthaltenen Stoffen, den verschiedenen Partialantigenen, vorbehandelt waren, sollten auch gegen nachfolgende Infektion mit virulenten Tuberkelbazillen immun sein. Diese Versuche liegen lange zurück und waren nur an wenigen Tieren ausgeführt. In späteren Untersuchungen sahen Much und Leschke²⁾, daß die gelungene Immunisierung mit Partialantigenen doch nur Ausnahmen darstellte, daß im allgemeinen weder mit den einzelnen Partialantigenen noch mit ihrem Gemisch eine Immunisierung möglich war. Langer³⁾ hat bei einzelnen Tierversuchen (die Protokolle sind nicht angegeben) gesehen, daß die Vorbehandlung mit dem Tuberkelbazillenrückstand, dem M. Tb., eine gewisse Verzögerung des Krankheitsbildes bei nachfolgender Infektion herbeiführt. Mit den einzelnen Partialantigenen und auch mit ihrer künstlichen Mischung ist eine solche Immunisierung nicht gelungen. Die Untersuchungen Muchs sind demnach noch mit Mißtrauen aufzunehmen, wie ja auch seine Theorien keineswegs allgemeine Anerkennung gefunden haben. Bessau³⁾ hat bei Meerschweinchen durch Impfung von 1—15 mg in verschiedener Weise abgetöteter Tuberkelbazillen eine Tuberkulinüberempfindlichkeit durch intrakutane Prüfung nachweisen können, allerdings nur bei einem Teil der Tiere; die besten Resultate ergab die intraperitoneale Einverleibung von schonend (2 Stunden bei 65°) abgetöteten Tuberkelbazillen. Bei intravenöser Injektion blieb

1) Much und Leschke, Beitr. z. Klin. d. Tuberk., Bd. 31.

2) Zit. nach Langer, Zeitschr. f. Kinderheilkunde, Bd. 25, Heft 4/6.

3) Bessau, Berl. klin. Wochenschr., 1916, p. 801.

bei allen Tieren der Erfolg aus. Eine Allgemeinempfindlichkeit hatte sich nicht ausgebildet; so vertrugen die Tiere bei subkutaner Injektion selbst 2 ccm Alttuberkulin ohne nennenswerte Krankheitserscheinungen. Mehrmals wurde ein „Auf-flammen“ älterer Intrakutanreaktionen beobachtet. Gegen diese Versuche ist einzuwenden, daß Bessau sich nur der intrakutanen Prüfung bedient hat und nicht der für das Meer-schweinchen weit empfindlicheren intravenösen Einspritzung des Tuberkulins. Die Intrakutanreaktion ist heute ja auch ein beliebtes Mittel, um eine Anaphylaxie in einem sensibili-sierten Meerschweinchen auszulösen, wobei es in gleicher Weise wie bei der Intrakutanreaktion mit Tuberkulin zu Schwellungen, ja sogar zu Nekrosen kommt. Die Unterscheidung zwischen einer anaphylaktischen und einer echten Tuberkulinreaktion ist deshalb außerordentlich schwer, und es kann der Gedanke nicht von der Hand gewiesen werden, daß es sich bei den Bessauschen Versuchen um eine Tuberkelbazilleneiweiß-anaphylaxie gehandelt hat. Vollkommen einwandfrei, was die Durchführung der Versuche als auch die Größe des ver-wandten Tiermaterials angeht, sind die Untersuchungen von Ungermann¹⁾. Dieser behandelte Meerschweinchen subkutan, intraperitoneal und intravenös mit Bazillen, die im Dampf 2 Stunden abgetötet waren, ferner mit dem Löffler-schen Impfstoff (Bazillen, welche im Exsikkator getrocknet und dann $\frac{1}{2}$ Stunde im Trockensterilisator bei 150° abgetötet waren) und dem Zeunerschen Oelseifenimpfstoff (Tuberkelbazillen werden in einer Oelseifenlösung 6 Tage hindurch im Schüttel-apparat bei 37° digeriert, dann 1 Stunde auf 70° erwärmt und darauf nochmals 3 Tage bei 37° geschüttelt; es wurden sowohl die Bazillenleiber als auch die mit Bazillenprodukten beladene Oelseifenlösung benutzt). Die Nachprüfung der mit dem letzten Impfstoff behandelten Tiere ergab im wesentlichen negative Resultate. Durch die beiden ersten Impfstoffe ließen sich die Tiere sensibilisieren; eine sichere Wirkung trat aber nur bei den Tieren ein, die mit 100 mg Bazillenmasse (also enorme Mengen) vorbehandelt waren. Zur Auslösung der Reaktion, die frühestens nach 15 Tagen, meist erst erheblich

1) Ungermann, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 48, p. 381

später, vorgenommen wurde, waren wieder größere Mengen, 100 mg lebende oder abgetötete Bazillen, erforderlich; in wenigen Versuchen gelang sie mit 20 und 25 mg, zweimal mit 10 mg; kleinere Dosen waren gänzlich wirkungslos. Bei intravenöser Verabreichung von Alttuberkulin trat in einigen Fällen auf Dosen von 0,5 und 0,1 ccm der Tod ein. In 4 Fällen verlief die Reaktion unter den akuten Formen des anaphylaktischen Shocks. In den meisten Fällen trat der Tod erst nach 20 Stunden ein. Die Auslösung einer Reaktion der mit Alttuberkulin vorbehandelten Meerschweinchen gelang in keinem Fall, eine Bestätigung unserer oben ausgesprochenen Ansicht, daß Alttuberkulin nicht als Antigen wirkt. Hält man fest, daß eine Sensibilisierung nur durch große Mengen Bazillensubstanz möglich ist, und daß zur Auslösung der Reaktion wiederum fast gleich große Mengen erforderlich sind, so wird man zu der Ansicht kommen, daß auch bei den Ungermannschen Versuchen nur eine Tuberkelbazilleneiweißanaphylaxie vorgelegen hat. Die Versuche von Bessau und Ungermann können mich deshalb nicht in meiner Ansicht irre machen, daß die echte Tuberkulinreaktion nur in einem durch lebende Bazillen infizierten Körper zustande kommt. Höchstens käme bei einem durch abgetötete Bazillen sensibilisierten Körper eine gewisse unspezifische, stark abgeschwächte Allergie in Frage, die aber einen wirksamen Tuberkuloseschutz nicht mit sich bringen wird. Die Immunisierung eines noch nicht infizierten Menschen mit abgetötetem Tuberkelbazillenmaterial hat deshalb keine begründete Aussicht.

Wir kommen nun zu dem wichtigsten Teil unserer vorliegenden Erörterungen, in welcher Weise wir uns denn die Entstehung einer Tuberkulinreaktion denken. Wenn man zu einer Lösung dieser Frage kommen will, so muß man den Mut haben, sich einmal völlig von den Anschauungen der Ehrlichschen Theorie frei zu machen. Zweifellos findet die Tuberkulinreaktion in dem Gewebe statt, und zwar nicht nur in dem die eingedrungenen Tuberkelbazillen umschließenden Gewebe, dem eigentlichen Krankheitsherd, sondern im gesamten Körpergewebe; es muß sich um eine rein zelluläre Eigenschaft handeln. Weiter wissen wir, daß die Tuberkulinreaktion eine Entzündung darstellt, mit der das tuberkulin-

empfindliche Gewebe auf die Einwirkung des Tuberkulins antwortet. Schwierig ist aber zu sagen, wie diese Entzündung zustande kommt. Die oben erwähnte Ansicht Bails, daß das Tuberkulin im tuberkulösen Gewebe festgehalten, dort zu einer giftigen Modifikation umgewandelt wird und jetzt eine entzündende Wirkung ausübt, glaube ich durch meine Versuche widerlegt zu haben. Diese sprechen mehr für die zweite Theorie Bails, daß das Tuberkulin unverändert bleibt, aber eine sehr große Angriffsfläche findet, nicht nur im erkrankten Gewebe, sondern im gesamten Organismus. Bessau stellt sich das Tuberkulin als ein ziemlich tief abgebautes Eiweißprodukt, als ein Polypeptid vor. Trifft das Tuberkulin auf tuberkulöses Gewebe, so soll ein Giftkörper entstehen, der lokal Entzündung, in den Körper gelangend Fieber erzeugen soll; die lokale Reaktion der Haut soll der Ausdruck dafür sein, daß der Organismus die Fähigkeit besitzt, auf Tuberkulininjektion tuberkulöses Gewebe zu bilden. Die Lokalreaktion wäre dann die Folge der Reaktion zwischen dem neu gebildeten tuberkulösen Gewebe und dem Tuberkulin. Bessau geht von folgender Anschauung aus: Gewisse Gewebselemente der tuberkulösen Entzündung können mit Tuberkulin in spezifischer Weise reagieren. Diese Elemente werden als Tuberkulozyten bezeichnet und sollen mit den Epitheloidzellen im Tuberkel identisch sein. Eine spezifische, in den Tuberkelbazillen und dem Tuberkulin enthaltene Substanz reizt den Organismus zur Bildung von Epitheloidzellen. Aus der Reaktion zwischen Tuberkulin und den gebildeten Epitheloidzellen (den Tuberkulozyten) entsteht eine Giftwirkung, welche eine einfache Entzündungsreaktion auslöst. Um die Epitheloidzellenschicht gruppiert sich eine Rundzellenschicht. Wie aus dem Zusammenwirken von Tuberkulin und Tuberkulozyten die giftige Komponente gebildet wird, darüber weiß Bessau vorläufig nichts zu sagen.

Gegen die Bessauschen Erwägungen sprechen meine Versuche in Tabelle III, in welchen auf gesunde Meer-schweinchen die tuberkulösen Gewebe übertragen wurden, die im lebenden Organismus mehrere Stunden mit Tuberkulin in Berührung gewesen waren, wo also doch die giftige Komponente hätte entstehen können. Ebenso sind die

Versuche 32—35 in Tabelle II in demselben Sinne zu verwenden. Meines Erachtens kommt man weiter, wenn man sich das Tuberkulin nur als Reizstoff vorstellt, der mit dem empfindlichen Gewebe in Berührung kommt und es zur Entzündung bringt, ohne selbst dabei gebunden oder verändert zu werden. Es würde dann nach Art eines Katalysators wirken, in ähnlicher Weise, wie sich jetzt Feldt¹⁾ die Wirkung der Goldpräparate denkt, nur daß diese eine viel gröbere ist, die das ausgebildete tuberkulöse Gewebe in unspezifischer Weise zur Entzündung bringt. In derselben Art wirken vielleicht auch andere Stoffe, wie z. B. die Albumosen oder Proteinkörper. Die Reizwirkung macht sich aber nur in einem durch eine Tuberkelbazilleninfektion veränderten Organismus bemerkbar; im Gewebe des nicht infizierten Körpers findet er keine Angriffsfläche. Kommt plötzlich eine große Menge Gift in das Blut, wie bei einer intravenösen Einspritzung von Tuberkulin beim tuberkulösen Meerschweinchen, dann wird auf einmal das gesamte Gewebe in Reaktion versetzt. Hierdurch werden aber die lebenswichtigen Funktionen der Zellen gestört, die Temperatur sinkt, und der Tod tritt ein, bevor es zu einer anatomisch sichtbaren Entzündung kommen konnte. Daß solches nicht nur bei tuberkulösen Meerschweinchen eintritt, sondern auch beim Menschen, zeigt ein von v. Hayek²⁾ beschriebener Fall. Ein junger Mediziner sollte bei einem in ein Kriegslazarett eingelieferten kranken Soldaten eine subkutane diagnostische Tuberkulininjektion machen und spritzte 1 ccm konzentriertes Alttuberkulin ein. Der Kranke ging nach kurzer Zeit unter Temperaturabfall zugrunde.

Die Fähigkeit des Körpergewebes, in einen spezifischen Entzündungszustand versetzt werden zu können, muß als eine für den Körper sehr günstige Einrichtung aufgefaßt werden und entspricht dem Tuberkuloseschutz des infizierten Organismus. Ueber die Entstehung des Tuberkuloseschutzes würde ich mir folgende Vorstellungen machen: die Tuberkelbazillen dringen auf irgendeine Weise in den menschlichen Körper, bleiben in Lunge, Drüsen, Milz oder Knochenmark liegen,

1) Feldt, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 52.

2) v. Hayek, Das Tuberkuloseproblem, Berlin 1920.

fangen dort an, sich zu vermehren und Gift auszuscheiden. Dieses Gift gelangt in das Blut und versetzt allmählich das ganze Körpergewebe in einen veränderten, für das Tuberkelbazillengift empfindlichen Zustand. Die fertige Ausbildung dieses Zustandes erkennen wir an dem Auftreten der Lokalreaktionen, von denen zuerst die feinere Intrakutan- oder Subkutanreaktion (Stichreaktion) positiv wird, etwas später die Pirquetsche Hautreaktion. Diese Veränderung, die Allergie v. Pirquets, macht die Zelle jetzt zur Abwehr fähig. Neue, von außen eindringende Tuberkelbazillen, oder auch deren Gifte (Tuberkulin), vermögen zwar das Gewebe noch etwas zu reizen und unter Umständen auch in Entzündung zu versetzen (wenn es sich, wie bei einer Tuberkulinanwendung, um größere Mengen Gift handelt), bleiben aber außerhalb der Zellen liegen, gehen zugrunde und werden als lästige Fremdkörper vom Organismus ausgeschieden oder abgebaut. Nur die bei der ersten Infektion in den Körper gelangten Tuberkelbazillen bleiben an der Ablagerungsstelle lebend. Um sie herum hat sich durch Entstehung eines Tuberkels ein Schutzwall gebildet, der eine doppelte Funktion hat, nämlich einmal die eingeschlossenen Bazillen vor den Einwirkungen des Körpers zu schützen, dann aber auch die Tuberkelbazillen im Innern festzuhalten (latentes Stadium), solange das Körpergewebe sich, sagen wir mal, in einem normalen reaktionsfähigen Stadium befindet. Der Abschluß ist aber nicht so vollkommen, daß die eingeschlossenen Bazillen nicht immer wieder von neuem Reize (Gift) ins Blut abgeben können, welche die Allergie unterhalten. Es muß also eine Wechselwirkung zwischen den eingeschlossenen Bazillen und dem Körper bestehen, deren Fäden wir noch nicht kennen. Nur so lange sich die lebenden Bazillen im Körper befinden, ist letzterer abwehrbereit oder immun gegen neue Infektion. Würde es, vielleicht mit Hilfe der Chemotherapie, gelingen, die lebenden Bazillen im Körper vollständig zu vernichten, dann würde damit wahrscheinlich auch der Tuberkuloseschutz verschwunden sein. Wir würden demnach ähnliche Verhältnisse wie bei der Syphilis des Menschen haben. Ob diese von mir angedeutete Theorie stimmt, muß durch weitere Untersuchungen, die von uns durch Kombination des Meer-

schweinchenversuchs mit der intrakutanen Impfung am tuberkulös infizierten Menschen vorgenommen werden sollen, geklärt werden. Würde die Theorie richtig sein, dann würde sie auch die Tuberkulintherapie nicht unbeeinflusst lassen. Auf diese Frage soll in einer späteren Arbeit eingegangen werden.

Zusammenfassung.

1) Die Tuberkulinreaktion ist keine Antikörperreaktion, da sich im Körper eines tuberkulösen Organismus keine Antistoffe nachweisen lassen, die mit dem Tuberkulin in Verbindung treten.

2) Das Tuberkulin wirkt als Reizstoff, ohne daß es im Körper verändert zu werden braucht. Seine Wirkung geht durch Erhitzung auf 150° nicht verloren.

3) Das Tuberkulin ist kein Antigen und vermag keine immunisierende Wirkung auszuüben. Vorbehandlung tuberkulöser Tiere mit untertödlichen Dosen schützt diese nicht vor den tödlichen Mengen.

4) Die Tuberkulinempfindlichkeit ist passiv nicht übertragbar. Sie ist nicht nur an dem Krankheitsherd, sondern an das gesamte Körpergewebe des durch eine Tuberkelbazilleninfektion umgestimmten, allergischen Körpers gebunden. Das Tuberkulin bringt dieses Gewebe in spezifischer Weise zur Entzündung; in unspezifischer Weise wirken andere Bakteriengifte und Proteinkörper.

5) Die Tuberkulinempfindlichkeit wird nur durch eine Infektion mit lebenden Tuberkelbazillen hervorgerufen, nicht durch abgetötete Bazillen. Letztere erzeugen in großen Dosen eine Tuberkelbazilleneiweißanaphylaxie, die aber mit der Tuberkulinempfindlichkeit nichts zu tun hat.

6) Die Tuberkulinempfindlichkeit entspricht dem Tuberkuloseschutz des infizierten Körpers. Neu eindringende Tuberkelbazillen versetzen wie das Tuberkulin die Zellen in einen spezifischen Entzündungszustand; sie werden dadurch abgewehrt und unschädlich gemacht. Die Tuberkulinempfindlichkeit oder Allergie ist als Abwehrmechanismus demnach für den Körper eine sehr nützliche Einrichtung.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor:
Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

**Experimentelle Untersuchungen über Milzbrandinfektion.
Superinfektion und Depressionsimmunität.**

Von Dr. D. Nagasawa.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Februar 1921.)

Robert Koch hat sich zuerst mit der wichtigen Frage der wiederholten Infektion bei der Tuberkulose des Meerschweinchens befaßt; nach ihm haben Behring, Römer, Joseph, Hamburger u. a. dieses Problem weiterbearbeitet. Später haben Landsteiner und Finger die Superinfektion bei der Syphilis eingehend verfolgt. Durch diese und andere Arbeiten ist die Superinfektion zu einem wichtigen und interessanten Gebiet der Immunitätsforschung geworden.

Besonders wichtig ist die Frage des zeitlichen Verlaufes der Immunitätsreaktion; nur durch umfangreiche experimentelle Arbeiten kann es uns gelingen, Licht auf dieses dunkle geheimnisvolle Gebiet zu werfen.

Es kann sich niemand dem Eindruck verschließen, daß sich ein ungemein großer und bedeutungsvoller Komplex von Tatsachen, der bisher meistens als biologische Reaktionen, wie Phagozytose, Agglutination, Präzipitation, Bakteriolyse, Komplementablenkung usw. betrachtet wurde, sich als nichts anderes erweist, als die Folgeerscheinung der schon stattgefundenen Reaktion.

Der von Morgenroth, H. Biberstein und R. Schnitzer (1) veröffentlichte Aufsatz unter dem Titel „Depressionsimmunität“ ist eine bedeutungsvolle Arbeit der neuen Richtung.

Die Frage erschien mir so interessant, daß ich Versuche unternahm, um die Milzbrandimmunität von diesem Standpunkte aus zu verfolgen.

Versuchsanordnung.**Methodik.**

Zu meinen Versuchen benutzte ich zuerst zwei virulente Milzbrandstämme des Hygiene-Instituts, später wurden noch die aus dem Institut Pasteur in Paris bezogenen Milzbrand-Vakzins I und II geprüft.

In Röhrchen schräg erstarrter Weizenagar wurde mit Milzbrandmaterial geimpft und im Brutschrank bei einer Temperatur von ca. 30° C während einiger Tage bis zur ausgiebigen Sporenbildung aufbewahrt. Dieser Weizenagarnährboden wurde zum erstenmal von Maurer 1920 angewandt, und zwar nach folgender Vorschrift:

500 g Weizengrieß und 1 Liter Wasser zusammen 12—24 Stunden stehen lassen, dann durch ein Tuch gießen; dem Filtrat wird 1 Prozent Pepton, $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz zugesetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad erhitzt und neutralisiert. Nach weiterem Zusatz von $1\frac{1}{2}$ Proz. Agar wird 1 Stunde auf 115° im Autoklav erhitzt, filtriert, in sterile Röhrchen abgefüllt, im Autoklav 20 Minuten auf 110° sterilisiert.

Die Angaben von Maurer kann ich bestätigen, die Sporenbildung von Milzbrandkulturen auf Weizenagar ist schon nach wenigen Tagen reichlich.

Die üppig gewachsenen Kulturen wurden mit wenig sterilem Wasser aufgeschwemmt und diese Aufschwemmung über feinsten, sterilen Meersand gegossen, der in einer großen Doppelschale gleichmäßig verteilt war. Der Sand wurde bei einer Temperatur von ca. 35° aufbewahrt und war nach 24 Stunden gänzlich trocken; darauf wurde er in kleineren Portionen in sterilem Mörser zerrieben. Der auf diese Weise schon ziemlich gleichmäßig mit Sporen durchsetzte Sand kam noch für einige Stunden in einen elektrischen Schüttelapparat, um die Sporenverteilung noch zu vervollständigen.

Das Material kam in eine zylindrische Glasröhre, deren unteres Ende mit einem Gummi- oder Korkpfropfen verschlossen war; auf dem Pfropfen befand sich eine dünne sterile Watteschicht, auf welche eine 3—4 cm hohe Schicht geglühtes Chlorkalzium folgte. Darüber kam eine zweite dünnere sterile Watteschicht, darauf das Sporensandmaterial; es folgte eine neue Watteschicht, und das obere Ende des Rohres wurde schließlich noch mit einem Gummizapfen luft-

dicht verschlossen. Die Röhrchen wurden im Kühlraum bei 4° C aufbewahrt und blieben mehr als ein halbes Jahr unverändert.

Um die Sporenzahl in einer gewissen Menge Sandes zu bestimmen, wurden z. B. 10 mg Sand abgewogen, in 10 ccm sterilem Wasser aufgeschwemmt und nach Bedarf verdünnt.

Je 1 ccm der verschiedenen Verdünnungen wurden in verflüssigten Agar gebracht und dieser darauf zu Platten gegossen; nach 24 Stunden wurden die Kolonien gezählt.

Bei verschiedenen Zählungen stimmten die Zahlen nicht immer absolut überein; doch sind die Unterschiede nicht allzu groß und werden desto kleiner, je kleiner die Sporenzahl in der betreffenden Verdünnung ist.

Auf diese Weise konnten wir zählen:

In 10 mg Sand 158 Sporen	in 5 mg Sand 70 Sporen
„ 1 „ „ 27 „	„ 0,5 „ „ 14 „
„ 0,1 „ „ 3 „	„ 0,05 „ „ 1 Spore

Daraus ergibt sich die Möglichkeit der Dosierung von Sporen schon vor ihrer Einverleibung. Bei jedem Versuch habe ich eine Hälfte von der zu gebrauchenden Sporenaufschwemmung injiziert und von der anderen Agarplatten gemacht und dann die Kolonien am nächsten Tage gezählt.

Man muß jedoch auch eine eventuelle Fehlerquelle berücksichtigen; ein Teil der Sporen kann nämlich an den Wänden der Spritze haften bleiben. Zur Feststellung derselben wurde die Spritze zu wiederholten Malen nach der Injektion mit sterilem Wasser gefüllt und über die Agarplatten gespritzt. Doch erwiesen sich diese Kulturen als steril.

Als Versuchstiere verwendeten wir hauptsächlich weiße Mäuse, weiße Ratten von 120—240 g und Meerschweinchen von 300—450 g Gewicht.

Die Injektionen wurden subkutan und intraperitoneal vorgenommen, bei den Meerschweinchen am Bauch, bei den Mäusen oberhalb der Schwanzwurzel. Es erfolgte eine tägliche Untersuchung auf lokale Reaktion.

Anschließend an jede Sektion haben wir zwei mikroskopische Präparate vom Herzblut bzw. Milzsaft angefertigt und aus beiden eine Agarkultur angelegt.

Die oben erwähnte Methode der Sandaufschwemmung wurde schon von Dr. med. Willy Marchew (2) am hiesigen

Institut bei der Untersuchung über die Mindestzahl der zur tödlichen Infektion ausreichenden Milzbrandsporen und über Superinfektion angewandt.

Verhalten der einzelnen Tiere.

I. Mäuse.

Mäuse sind hochempfindlich gegen Milzbrandsporen; die Infektionsdauer bis zum Exitus war nicht immer proportional der injizierten Sporenmenge; im Gegenteil! So erlagen zu Beginn unserer Versuche die Tiere bei subkutaner Injektion von 2 Sporen schon nach 3—4 Tagen, bei 30—142 am 4. bis 7. Tage und bei 850 Sporen am 5. Tage. Bei späteren Versuchen, mit 5 Monate lang aufbewahrtem Sandmaterial, starben sie bei nur 1—2 Sporen nach 7 Tagen.

Nach intraperitonealer Injektion von 50 Sporen starben die Tiere nach 33 Stunden.

Wenn auch, wie oben erwähnt, kein genaues Verhältnis zwischen der Krankheitsdauer und der injizierten Sporenmenge bestand, gingen doch alle Mäuse ausnahmslos am 3.—8. Tage zugrunde. Die Menge von 2 Sporen genügte, um die Mäuse sicher zu töten.

Die Versuche, die mit aus dem Institut Pasteur bezogenem Milzbrandvakzin I und II ausgeführt wurden, ergaben hingegen, daß die direkt mit 0,1 ccm Milzbrandvakzin I injizierte Maus am Leben blieb; die mit 0,5 ccm desselben Vakzins I injizierte starb nach 12 Tagen; die mit 0,1 ccm Vakzin II injizierte starb nach 4 Tagen und die mit 0,5 ccm Vakzin II nach 4 $\frac{1}{2}$ Tagen an Milzbrand.

II. Ratten.

Ratten sind im allgemeinen ziemlich widerstandsfähig gegen Milzbrandsporen. Eine kleine Ratte von 110 g Gewicht erlag der Infektion am 5. Tage nach einer subkutanen Injektion von 188 Sporen; eine größere (Gewicht 240 g), mit 70 Sporen injiziert, ging erst nach 10 Tagen zugrunde. Die Kulturen jedoch, die ich von der letzteren aus Herzblut und aus Milzsaft anlegte, haben sich als steril erwiesen. Ebenso konnte ich von einer mit 600 Sporen intraperitoneal injizierten und nach 3 Tagen gestorbenen Ratte keine Milzbrandbazillen

züchten. Die übrigen mit 600 Sporen subkutan oder intraperitoneal injizierten Tiere erlagen der Infektion nicht.

III. Meerschweinchen.

Meerschweinchen reagieren im Vergleich zu den beiden vorhergenannten Tieren viel konstanter. Mit 850 Sporen, welche subkutan injiziert wurden, erfolgte der Tod nach 2 Tagen 6 Stunden, mit 125—400 Sporen nach $2\frac{1}{2}$ —3 Tagen, mit 2 Sporen nach 4—5 Tagen.

Bei der Sektion konnte ich ausnahmslos ein typisches sulziges subkutanes Oedem an der Injektionsstelle und typische Vergrößerung und Dunkelfärbung der Milz nachweisen, mit enormen Mengen von Milzbrandbazillen in der Milz und geringeren im Herzblut.

Neben diesen ziemlich einheitlichen Resultaten gibt es gelegentlich auch Versager; unter den ca. 40 Versuchstieren haben 10 mit 2—300 Sporen subkutan injizierte Meerschweinchen die Infektion überstanden.

Ein Meerschweinchen (280 g Gewicht), das mit 1,0 ccm Milzbrand-Pasteur-Vakzin I infiziert wurde, blieb am Leben, ein anderes (270 g Gewicht), mit 1,0 Pasteurvakzin II infiziert, starb am 2. Tage.

Superinfektion mit verschiedenen Mengen und in verschiedenen Zeiträumen. Depressionsimmunität?

Zum Zweck der Feststellung der Reaktionsresultate bei den verschiedenen Versuchstieren durch Superinfektion mit verschiedenen Mengen von Milzbrandsporen in verschiedenen Zeiträumen stellte ich mehrere umfangreiche Versuchsreihen an.

Versuche mit Sporen von Milzbrandstamm II an Mäusen.

Die infizierte Sporenzahl betrug 2—850 in Zwischenräumen von 2—5 Tagen.

Zur Uebersicht habe ich meine Versuche in 4 Reihen eingeteilt, von denen Reihe I a), b), II, III a) und IV a) subkutan, III b) teils subkutan, teils intraperitoneal und IV b) nur intraperitoneal injiziert wurden.

Reihe I a) täglich 1 Injektion, 3 Tage lang (subkutan)
 b) „ 1 „ 5 „ „ „

24*

Reihe II am 1. Tage 2 Injektionen, am 2., 3., 4. Tage je 1 Injektion (subkutan)

Reihe III a) täglich 2 Injektionen, 3 Tage lang (subkutan)

b) am 1. Tage 1 Injektion 8 a. m. (subkutan)

„ 1. „ 1 „ 6 p. m. (intraperitoneal)

„ 2. und 3. Tage 2 Injektionen 8 a. m. und 6 p. m. (intraperitoneal)

Reihe IV a) täglich 3 Injektionen 8 a. m., 2 p. m., 6 p. m., 2 Tage lang (subkutan)

b) täglich 3 Injektionen, im ganzen 6 Injektionen, 8 a. m., 2 p. m., 6 p. m. 2 Tage lang (intraperitoneal)

Die Resultate unserer Versuche sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I.
Superinfektion. Mäuse. Sporen vom Milzbrandbazillenstamm II.

No.	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milzbrandbazillen im		Kulturen Agar
						erster Injektion	letzter Injektion		Milzs.	Herzbl.	
17	9. IX.	142	sk.	+	12/13. IX.	4 Tage	2 Tage	typisch	+	+	+
	10. „	142									
	11. „	142									
18	9. „	142	„	+	„	4 „	2 „	„	+	+	+
	10. „	142									
	11. „	142									
19	9. „	5	„	+	14/15. IX.	6 „	4 „	„	+	+	+
	10. „	5									
	11. „	5									
20	9. „	5	„	+	„	6 „	4 „	Milz klein	—	—	Kokken
	10. „	5									
	11. „	5									
Kontr.	9. „	142	„	+	„	6 „	.	typisch	+	+	+
Kontr.	9. „	5	„	+	16/17. IX.	8 „	.	„	+	+	+
43	6. X.	2	„	+	14/15. X.	9 „	5 „	nicht typisch	—	—	—
	7. „	2									
	8. „	2									
	9. „	2									
44	10. „	2	„	+	11. X.	5 „	1 Tag	typisch	+	+	+
	6. „	2									
	7. „	2									
	8. „	2									
45	9. „	2	„	+	10/11. X.	5 „	1 „	„	+	+	+
	10. „	2									
	6. „	125									
	7. „	125									
45	8. „	125	„	+	10/11. X.	5 „	1 „	„	+	+	+
	9. „	125									
	10. „	125									

Tabelle I (Fortsetzung).

No.	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milzbrandbazillen im		Kulturen Agar
						erster Injektion	letzter Injektion		Milzs.	Herzbl.	
46	6. X.	125	sk.	+	11/12. X.	6 T.	2 Tage	typisch	+	+	+
	7. "	125									
	8. "	125									
	9. "	125									
47	10. "	125	"	+	9/10. X.	4 "	1 Tag	"	+	+	+
	6. "	400									
	7. "	400									
	8. "	400									
48	9. "	400	"	+	8/9. X.	3 "	1 "	"	+	+	+
	6. "	400									
	7. "	400									
	8. "	400									
Kontr.	6. "	2	"	+	12/13. X.	7 "	.	"	+	+	+
Kontr.	6. "	125	"	+	"	7 "	.	"	+	+	+
Kontr.	6. "	400	"	+	10/11. X.	5 "	.	"	+	+	+
35	1. X. { 9 a.m.	3	"	+	4/5. X.	4 "	1 T.	"	+	+	+
	2. " { 5 p.m.	3									
	3. " { 9 a.m.	3									
	4. " { dgl.	3									
36	1. " { 9 a.m.	3	"	+	6. X.	5 $\frac{1}{2}$ "	2 $\frac{1}{2}$ "	"	+	+	+
	2. " { 5 p.m.	3									
	3. " { 9 a.m.	3									
	4. " { dgl.	3									
37	1. " { 9 a.m.	140	"	+	3. X.	2 $\frac{1}{2}$ "	1 "	"	+	+	+
	2. " { 5 p.m.	140									
	3. " { 9 a.m.	140									
	4. " { dgl.	140									
38	1. " { 9 a.m.	140	"	+	2/3. X.	2 "	1 "	"	+	+	+
	2. " { 5 p.m.	140									
	3. " { 9 a.m.	140									
	4. " { dgl.	140									
39	1. " { 9 a.m.	850	"	+	3/4. X.	3 "	1 "	"	+	+	+
	2. " { 5 p.m.	850									
	3. " { 9 a.m.	850									
	4. " { dgl.	850									
40	1. " { 9 a.m.	850	"	+	4. X.	3 "	1 "	"	+	+	+
	2. " { 5 p.m.	850									
	3. " { 9 a.m.	850									
	4. " { dgl.	850									
Kontr.	1. " { 9 a.m.	3	"	+	6/7. X.	6 "	.	"	+	+	+
Kontr.	dgl.	140	"	+	6/7. X.	6 "	.	"	+	+	+
Kontr.	"	850	"	+	5/6. X.	5 "	.	"	+	+	+

Tabelle II.
Superinfektion. Mäuse. Sporen von Milzbrandbazillenstamm II.

No.	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milzbrandbazillen im		Kulturen Agar
						erster Injektion	letzter Injektion		Milzs.	Herzbl.	
23	20. IX.	8 a. m. 40 6 p. m. 25	sk.	+	23. X.	3 1/2 T.	1 T.	typisch	+	+	+
	21. „	— 25									
	22. „	— 40 — 43									
24	20. „	— 40 — 25	„	+	21/22. IX.	2	1	Milz groß	—	—	—
	21. „	— 25 — 40									
25	20. „	— 40	ip.	+	24/25. IX.	5	3	typisch	+	+	+
	21. „	— 25									
	22. „	— 40 — 43									
26	20. IX.	— 40	sk.	+	21/22. IX.	2	1 T.	Periton. acuta	+	+	+
	21. „	— 25 — 40									
Kontr.	20. „	— 40	sk.	+	25/26. IX.	6	„	typisch	+	+	+
Kontr.	20. „	— 40	„	+	„	6	„	„	+	+	+
29	27. „	8 a. m. 50 2 p. m. 50 6 p. m. 50	sk.	+	1. X.	4	3	„	+	+	+
	28. „	— 50 — 50									
30	27. „	— 50 — 50	„	+	2/3. X.	6	5	„	+	+	+
	28. „	— 50 — 50									
31	27. „	— 50 — 50	ip.	—	28/29. IX.	2	1/2	Periton. acuta	+	+	+
	28. „	— 50 — 50									
32	27. „	— 50 — 50	„	—	28. IX.	1 1/2	3 Std.	typisch	+	+	+
	28. „	— 50 — 50									
Kontr.	27. „	— 50	sk.	+	4. X.	7	„	„	+	+	+
Kontr.	27. „	— 50	ip.	—	28. IX.	33 Std.	„	„	+	+	+

Reihe Ia. Von den mit 5—142 Sporen täglich einmal subkutan injizierten Mäusen starben 2 am 4. Tage und 2 am 6., die Kontrollen am 6. und 8. Tage.

In Reihe Ib hatte die subkutane Injektion von 2 Sporen täglich, 5 Tage lang, den Tod eines Tieres schon am 5. Tage zur Folge; die Kontrolle starb am 7. Tage, eine andere Maus starb am 9. Tage; dieser Fall ergab keine Milzbrandbazillen. Die wiederholte Injektion von 125 Sporen verursachte bei einer Maus am 5. Tage den Tod, bei einer anderen am 6., bei der Kontrolle am 7. Tage. Bei Injektion von 400 Sporen gingen 2 Tiere während des Versuches zugrunde, das Kontrolltier am 5. Tage.

Reihe II. Von den mit je 3 Sporen am 1. Tage 2mal, am 2., 3. und 4. Tage je einmal subkutan injizierten Mäusen starb eine am 4. Tage, eine andere nach $5\frac{1}{2}$ Tagen, die Kontrolle am 6. Tage. 2 Mäuse, die mit 850 Sporen wie oben injiziert wurden, erlagen gleichzeitig schon am 3. Tage der Infektion, die Kontrolle nach 5 Tagen.

Reihe IIIa. Nach subkutaner Injektion von 25 bis 40 Sporen, täglich 2mal, 3 Tage lang, starb ein Tier nach $3\frac{1}{2}$ Tagen, ein anderes schon am 2. Tage, die Kontrolle am 6. Tage.

Reihe IIIb. Am 1. Tage wurden subkutan 8 a. m. und intraperitoneal 6 p. m. 25—40 Sporen injiziert; am 2. und 3. Tage 2 intraperitoneale Injektionen 8 a. m. und 6 a. m. ausgeführt, wonach eine Maus schon am 2. Tage, eine andere am 5. Tage zugrunde ging, die Kontrollen am 6. Tage.

Reihe IVa. 50 Sporen 3mal täglich. 8 a. m., 2 p. m., 6 p. m., 2 Tage lang, subkutan injiziert, töteten eine Maus am 4. Tage und eine am 6., die Kontrollen erst am 7. Tage.

Reihe IVb. Nach intraperitonealer Injektion, genau wie a) ausgeführt, erlag eine Maus schon nach $1\frac{1}{2}$ Tagen, eine andere am 2. Tage der Infektion, die Kontrolle nach 33 Stunden.

Trotzdem obige Versuche nicht genügend umfangreich sind, um ein abschließendes Urteil zu geben, können wir doch folgendes daraus entnehmen:

In allen Versuchsreihen erlagen die wiederholt in kurzen Zwischenräumen mit Milzbrand-

sporen infizierten Mäuse etwas früher der Infektion, als die nur einmal mit der einfachen Sporenmenge geimpften Kontrolltiere. Bei relativ virulentem Milzbrandmaterial gelang es nicht, mittels kurz nacheinander ausgeführter Injektion eine Immunität zu erzielen, im Gegenteil!

Versuche mit Sporen von Milzbrandstamm II an Meerschweinchen.

Zur Uebersicht teile ich diese Versuche auch in vier Reihen ein:

Reihe I mit 2—400 Sporen täglich einmal 5 Tage lang (subkutan).

Reihe II mit 3—850 Sporen am 1. Tage 2mal, am 2., 3. und 4. Tage je einmal (subkutan).

Tabelle I.

Superinfektion. Meerschweinchen. Sporen von Milzbrandbazillenstamm II.

No.	Gewicht in Gramm	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milz- brand- bazillen im		Kulturen Agar		
							erster Injek- tion	letzter Injek- tion		Milzs.	Herzbl.			
26	340	6. X.	2	sk.	+	8.—9. X.	3	T. 1	T. typ.	+	+	+		
		7. "	2											
		8. "	2											
27	300	6. "	2	"	+	8. X.	2 $\frac{1}{2}$	"	1 $\frac{1}{2}$	"	"	+	+	+
		7. "	2											
		8. "	2											
28	280	6. "	125	"	+	8.—9. X.	3	"	1	"	"	+	+	+
		7. "	125											
		8. "	125											
29	320	6. "	125	"	+	8.—9. X.	3	"	1	"	"	+	+	+
		7. "	125											
		8. "	125											
30	280	6. "	400	"	+	8. X.	49 Std.	1	Std.	"	"	+	+	+
		7. "	400											
		8. "	400											
31	290	6. "	400	"	+	dgl.	54	"	6	"	"	+	+	+
		7. "	400											
		8. "	400											
32 Kontr.	340	6. "	2	"	+	blieb am Leben								
Kontr.	360	6. "	125	"	+	"	2 $\frac{1}{2}$	T.	.	typ.	+	+	+	
Kontr.	400	6. "	400	"	+	"	2 $\frac{1}{2}$	"	.	"	+	+	+	

Reihe III. An Meerschweinchen, die schon eine Infektion mit 4—24 Sporen überstanden hatten, wurden 23 Tage nach der 1. Infektion folgende Superinfektionen ausgeführt:

- a) am 1., 2. und 3. Tage 2mal täglich 8 a. m., 6 p. m. (subkutan),
 b) am 1. Tage 8 a. m. nur einmal (subkutan), 6 p. m. (intra-peritoneal), am 2. und 3. Tage 8 a. m., 6 p. m. (intra-peritoneal).

- Reihe IV. a) Meerschweinchen, die schon eine 2malige subkutane Infektion mit 2—274 Sporen überstanden hatten, wurden 3mal mit 14—300 Sporen in 7-tägigen Zwischenräumen injiziert (subkutan).
 b) 4 Meerschweinchen wurden nach einmal überstandener Infektion von 2—194 Sporen und 2 nach 5mal überstandener von 2—300 Sporen nochmals mit nur 22 Sporen injiziert.

Tabelle II.

Superinfektion. Meerschweinchen. Sporen von Milzbrandbazillenstamm II.

No.	Gewicht in Gramm	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milz- brand- bazillen im		Kulturen Agar
							erster Injek- tion	letzter Injek- tion		Milz.	Herzbl.	
18 425		1. X. { 9 a. m. 5 p. m. 2. " 9 a. m. 3. " dgl. 4. " "	{ 3 3 3 3 3	sk.	+				blieb am Leben			
19 430		1. " { 9 a. m. 5 p. m. 2. " 9 a. m. 3. " dgl.	{ 3 3 3 3	"	+	3. X.	2 $\frac{1}{2}$ T.	7 Std.	typ.	+	+	+
20 350		1. " { 9 a. m. 5 p. m. 2. " 9 a. m. 3. " dgl.	{ 140 140 140 140	"	+	dgl.	2 $\frac{1}{2}$ "	7 "	"	+	+	+
21 335		1. " { 9 a. m. 5 p. m. 2. " 9 a. m. 3. " dgl.	{ 140 140 140 140	"	+	"	2 $\frac{1}{2}$ "	6 "	"	+	+	+
22 390		1. " { 9 a. m. 5 p. m. 2. " 9 a. m. 3. " dgl.	{ 850 850 850 800	"	+	3.—4. X.	3 "	1 T.	"	+	+	+
23 420		1. " { 9 a. m. 5 p. m. 2. " 9 a. m. 3. " dgl.	{ 850 850 850 800	"	+	3. X.	2 $\frac{1}{2}$ "	6 Std.	"	+	+	+

Tabelle II (Fortsetzung).

No.	Gewicht in Gramm	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milz- brand- bazillen im		Kulturen Agar			
							erster Injek- tion	letzter Injek- tion		Milzs.	Herzbl.				
24 Kontr.	300	1. X. 9 a. m.	3	sk.	±	blieb am Leben									
Kontr.	310	dgl.	140	"	+	3.—4. X.	3 T.	.	typ.	+	+	+			
Kontr.	315	"	850	"	+	3. X.	2 1/2 "	.	"	+	+	+			
10	450	30. VIII.	24 (I)	}	sk.	+	24.—25. IX.	26	"	1 Std.	"	+	+	+	
		22. IX. { 8 a. m.	217												
		6 p. m.	350												
		23. " { —	350												
		24. " { —	160												
		24. " { —	130												
		24. " { —	130												
11	365	30. VIII.	24 (I)	}	"	+	24. IX.	25	"	5	"	"	+	+	+
		22. IX. { 8 a. m.	217												
		6 p. m.	350												
		23. " { —	350												
		24. " { —	160												
		24. " { —	130												
		24. " { —	(—)												
12	365	30. VIII.	4 (I)	}	"	+	24. IX.	25	"	5	"	"	+	+	+
		22. IX. { 8 a. m.	217												
		6 p. m.	350												
		23. " { —	350												
		24. " { —	160												
		24. " { —	130												
		24. " { —	(—)												
13	415	30. VIII.	4 (I)	}	sk.	+	26.—27. IX.	28	"	3	T.	"	+	+	+
		22. IX. { 8 a. m.	217												
		6 p. m.	350												
		23. " { —	350												
		24. " { —	160												
		24. " { —	130												
		24. " { —	130												
Kontr.	370	22. "	217	sk.	+	24.—25. IX.	3	"	.	"	+	+	+		
Kontr.	430	dgl.	217	"	+	24. IX.	2 1/2 "	"	.	"	+	+	+		

Zur Erläuterung obiger Tabellen möchte ich noch folgende Angaben machen:

Zu Reihe I. Von den mit täglich einmal 2 Sporen subkutan injizierten Meerschweinchen ging das eine schon nach 2 1/2 Tagen, ein anderes am 3. Tage zugrunde; die Kontrolle, nur mit 2 Sporen injiziert, blieb gesund. Von den mit 125 Sporen injizierten Tieren starben 2 gleichzeitig am 3. Tage,

Tabelle III.

Superinfektion. Meerschweinchen. Sporen vom Milzbrandbazillenstamm I(1) und II.

No.	Gewicht in Gramm	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion	Lokale Reaktion	Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milz- brand- bazillen im		Kulturen Agar						
							erster Injek- tion	letzter Injek- tion		Milzs.	Herzbl.							
4	300	{ 16. VIII.	100	{ sk.	+	25.—26. IX.	41	T. 4	T. typ.	+	+	+						
		{ 1. IX.	11															
		{ 8. "	194															
		{ 15. "	300															
6	390	{ 22. "	223	{ "	+	3.—4. IX.	12	"	3	"	"	+						
		{ 23. VIII.	30															
		{ 1. IX.	274															
		{ 23. VIII.	30															
7	370	{ 1. IX.	11	{ "	+	18. IX.	26	"	3	"	"	+						
		{ 8. "	194															
		{ 15. "	300															
		{ 23. VIII.	2															
9	400	{ 1. IX.	274	{ "	+	blieb am Leben												
		{ 8. "	14															
		{ 15. "	300															
		{ 22. "	223															
14 Kontr.	315	8. "	194	{ "	+								dgl.					
15 Kontr.		340	8. "															
9	400	{ 23. VIII.	2	{ "	+	7. XI.	76	T. 3 ¹ / ₂	T. typ.	+	+	+						
		{ 1. IX.	274															
		{ 8. "	14															
		{ 15. "	300															
14	315	{ 22. "	223	{ "	+	6. XI.	59 ¹ / ₂	"	2 ¹ / ₂	"	"	+						
		{ 4. XI.	22															
		{ 8. IX.	194															
		{ 4. XI.	22															
15	340	{ 8. IX.	14	{ "	+	6.—7. XI.	60	"	3	"	"	+						
		{ 4. XI.	22															
		{ 1. X. {9. a. m.	3															
		{ 2. " {5. p. m.	3															
18	425	{ 3. "	3	{ "	+	6.—7. XI.	37	"	3	"	"	+						
		{ 4. "	3															
		{ 4. XI.	22															
		{ 1. X.	3															
24	300	{ 4. IX.	22	{ "	+	7. XI.	37	"	3 ¹ / ₂	"	"	+						
		{ 6. X.	2															
		{ 4. XI.	22															
		{ 4. XI.	22															
32	340	{ 6. X.	2	{ "	+	7. XI.	32	"	3 ¹ / ₂	"	"	+						
		{ 4. XI.	22															
		{ 4. XI.	22															
		{ 4. XI.	22															
35 Kontr.	420	dgl.	22	{ "	+	blieb am Leben												
35 420		{ 2. XII.	187										{ "	+	4. XII.	30	"	2

d. h. mehrere Stunden später als die Kontrolle (Kontrolle nach $2\frac{1}{2}$ Tagen); die mit 400 Sporen injizierten starben nach 49 Stunden und nach $2\frac{1}{2}$ Tagen, die Kontrolle nach $2\frac{1}{2}$ Tagen.

Zu Reihe II. 2 Meerschweinchen (No. 18 und 19) erhielten ganz kleine Mengen, 3 Sporen, subkutan, und zwar zweimal am 1. und einmal an den 2—4 nächsten Tagen. Das eine Tier starb schon am 2. Tage, das zweite blieb am Leben. 2 weitere Meerschweinchen wurden mit großen Sporenmengen, 850, injiziert; das eine starb vor der 5. Injektion, gleichzeitig mit dem Kontrolltier, das andere einige Stunden später.

Zu Reihe III. Superinfektion in Zwischenräumen von 8 und mehr Tagen. Zu diesen Versuchen dienten 4 Meerschweinchen. Das eine (No. 6) erhielt am 23. VIII. 1920 subkutan 30 Sporen, nach 8 Tagen, am 1. IX., 274 Sporen und starb 3 Tage nach dieser 2. Injektion; ein anderes Meerschweinchen (No. 9) erhielt am 23. VIII. 2, am 1. IX. 274 (wie das vorherige), am 8. IX. 14, am 15. IX. 300 und am 22. IX. 223 Sporen; nach der 1. und nach der 2. Injektion war die lokale Reaktion deutlich. Währenddem diese 5 Injektionen gut ertragen wurden, führte die 6., am 4. XI., d. h. 5 Wochen später ausgeführte Infektion mit nur 22 Sporen zum Tode, das Kontrollmeerschweinchen (420 g schwer, wie das vorherige) ertrug dieselbe Sporenmenge anstandslos.

Ein weiteres, ähnlich vorbehandeltes, 370 g schweres Meerschweinchen (No. 7) ertrug 3 Injektionen in 8-tägigen Zwischenräumen, ging aber 3 Tage nach der 4. Injektion an Milzbrand zugrunde; das 4. Meerschweinchen dieser Serie (No. 4) starb 4 Tage nach der 5. Injektion von 223 Sporen, nachdem es in Zwischenräumen von 14 und 8 Tagen die subkutane Injektion von 100, 11, 194 und 300 Sporen ertragen hatte und die zwei ersten Male mit einer lokalen Schwellung reagierte.

Zu Reihe IV a. Ich möchte noch dazu bemerken, daß das Meerschweinchen (No. 9), das im ganzen mit 813 Sporen auf 5mal in 7-tägigen Zwischenräumen während 30 Tagen injiziert wurde, die Infektion überlebte; ebenso wurde sie auch von beiden Kontrollen (I mit 194 Sporen und II mit 14 Sporen subkutan) überstanden.

IV b. 4 Meerschweinchen überlebten eine einmalige Infektion (No. 14 mit 194 Sporen, No. 15 mit 14, No. 24 mit 3

und No. 32 mit 2 Sporen, subkutan); davon wurden No. 14 und 15 am 47. Tage, No. 24 am 34. Tage und No. 32 am 29. Tage nochmals mit 22 Sporen superinfiziert. Es starben No. 14 nach $2\frac{1}{2}$, No. 15 und 18 nach 3 und No. 24 und 32 gleichzeitig nach $3\frac{1}{2}$ Tagen. Die Kontrolle blieb am Leben.

Zwei weitere Meerschweinchen ertrugen eine 5malige Infektion (No. 9 mit 2—300, No. 18 mit je 3 Sporen) und gingen, nachdem sie wieder mit 22 Sporen superinfiziert wurden (No. 18 am 31. Tage, No. 9 am 43. Tage nach der letzten Infektion), No. 18 am 3. Tage und No. 9 nach $3\frac{1}{2}$ Tagen zugrunde.

Diese Versuche beweisen, daß bei größeren Meerschweinchen eine Gesetzmäßigkeit im Verhalten gegenüber der Superinfektion mit Milzbrandbazillen nicht besteht. Die einen Tiere ertragen eine Sporenmenge, die für andere tödlich wirkt.

Auch in bezug auf die Sporenmenge besteht keine Gesetzmäßigkeit; es kommt vor, daß ein Tier, das mehr Sporen subkutan injiziert erhielt, am Leben blieb, währenddem ein gleichzeitig mit wenigen Sporen derselben Aufschwemmung infiziertes Meerschweinchen an Milzbrand zugrunde geht.

Besondere Erwähnung verdient der Umstand, daß es uns, bei wiederholter Vorbehandlung mit virulentem Material, in keinem einzigen Falle gelungen ist, bei größeren Meerschweinchen eine dauernde Immunität gegen Milzbrand zu erzeugen.

Versuche an Ratten mit Sporen des Milzbrandstammes II.

Diese Versuche teile ich in zwei Reihen.

Reihe I. 6 Ratten werden in verschiedenen Intervallen mit 2—387 Sporen subkutan infiziert.

Reihe II. Infektion von 8 Ratten in bestimmten Intervallen mit 30—70 Sporen subkutan, und zwar:

- a) 2 Ratten täglich 2mal 3 Tage lang,
- b) 2 Ratten täglich 1mal 6 Tage lang,
- c) 2 Ratten 1mal jeden 2. Tag 6 Tage lang,
- d) 2 Ratten 1mal jeden 3. Tag 6 Tage lang.

Es wurden eine größere Anzahl von Versuchen an Ratten ausgeführt in der Absicht, bei diesen spontan milzbrandresistenten Tieren eine erhöhte Immunität zu erzeugen. Die Versuche sind in beifolgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV. Superinfektion. Weiße Ratten.
Sporen vom Milzbrandbazillenstamm I (I) und II.

No.	Gewicht in g	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion		Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milzbr.-Bazillen im		Kulturen Agar
					Lokale Reaktion		erster Injektion	letzter Injektion		Milzs.	Herzbl.	
1	145	16. VIII.	387	sk.	+	23. VIII.	7 Tg.	3 Tg.	typ.	+	+	+
		20. "	350									
3	240	16. "	100	"	+	25/26. VIII.	10 "	6 "	"	+	+	+
		20. "	113									
9	190	30. "	24 ^(I)	"	+	4. XI.	66 "	5 ¹ / ₂ "	"	+	+	+
		29. X.	600									
12	210	30. VIII.	4 ^(I)	ip.	±	1/2. XI.	64 "	4 "	"	+	+	+
		29. X.	600									
15	240	13. IX.	8 a. m. 40	sk.	+	24. X.	41 "	24 "	"	+	+	+
		14. "	6 p. m. 40									
		15. "	— 50									
		30. "	— 50									
16	210	13. "	8 a. m. 40	"	+	15/16. X.	33 "	16 "	"	+	+	+
		14. "	6 p. m. 40									
		15. "	— 50									
		30. "	— 43									
17	175	13. "	40	"	+	getötet am 29. XI.			Milz groß	.	.	steril
		14. "	50									
		15. "	50									
		16. "	40									
		17. "	40									
		18. "	50									
		29. X.	300									
		24. XI.	350									
18	120	13. IX.	40	"	+	getötet am 29. XI.			dgl.	.	.	"
		14. "	50									
		15. "	50									
		16. "	40									
		17. "	40									
		18. "	50									
		29. X.	300									
		24. XI.	350									
19	185	13. IX.	40	"	+	getötet am 18. XI.			"	.	.	"
		15. "	50									
		17. "	40									
		19. "	50									
		21. "	40									
		23. "	50									
		30. "	600									
		29. X.	300									

Tabelle IV (Fortsetzung).

No.	Gewicht in g	Injektion am	Sporenzahl	Art der Injektion		Gestorben am	Tod nach		Sektionsbefund	Milzbr.-Bazillen im		Kulturen Agar
					Lokale Reaktion		erster Injektion	letzter Injektion		Milz.	Herzbl.	
20	150	13. IX.	40	sk.	+	getötet am 18. XI.			Milz groß	.	.	steril
		15. "	50									
		17. "	40									
		19. "	50									
		21. "	40									
		23. "	50									
29	250	30. "	600	ip.	+	getötet am 4. XII.			dgl.	.	.	„
		29. X.	300									
		29. X.	600	sk.	+							
		24. XI.	350									

Es sollte geprüft werden, ob die wiederholte Injektion von geringen Mengen Milzbrandsporen bei Ratten eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber stärkeren Dosen erzeugt. Zu diesem Zwecke wurden gleiche Mengen — 40—50 Sporen — den einen Tieren 2mal innerhalb 24 Stunden, den anderen jeden 2. resp. 3. Tag injiziert. Die Versuche sind nicht zahlreich genug zu einem endgültigen Urteil. Immerhin verdient die Tatsache Beachtung, daß diejenigen Ratten, welche 2mal täglich injiziert worden waren, nach 16 Tagen einer Injektion von 600 Sporen erlagen, währenddem diejenigen Versuchstiere, welche dieselbe Menge Sporen in größeren Zwischenräumen injiziert erhielten, am Leben blieben.

Die Virulenz unserer Milzbrandsporen scheint innerhalb kurzer Zeit abgenommen zu haben; im August starben zwei Ratten nach 2maliger Injektion von je 350 resp. 100 Sporen, währenddem einen Monat später noch größere Mengen ertragen wurden.

Die intraperitoneale Injektion von Milzbrandsporen wird von den Ratten ziemlich gut ertragen; es waren größere Mengen (600 Sporen) erforderlich, um die Tiere an Milzbrand zu töten.

Eine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber Milzbrandinfektion durch wiederholte Vorbehandlung mit Milzbrandsporen war in unseren Versuchen nicht sicher nachzuweisen wegen der angeborenen Milzbrandimmunität der Ratte.

Depressionsimmunität.**Versuche mit Milzbrandsporen an Mäusen und Meerschweinchen.**

Die von Morgenroth entwickelten Gesichtspunkte über Immunität unter dem Titel „Depressionsimmunität“ haben uns dieses Gebiet in einem neuen Lichte gezeigt. Den Kernpunkt seiner Theorie faßt er, wie folgt, zusammen:

„Die Immunität findet also ihren Ausdruck darin, daß die bei nicht vorinfizierten Mäusen akut tödliche Superinfektion in eine chronische Infektion verwandelt wird, die im wesentlichen den Charakter der chronisch verlaufenden Vorinfektion trägt. Es findet eine Depression der Virulenz statt — Depressionsimmunität.“

Morgenroth stellt auch über den zeitlichen Verlauf der Immunität bestimmte Gesetze auf, daß sie nämlich bereits 24 Stunden nach der Vorinfektion voll ausgebildet und schon nach 6 Stunden in nachweisbarer Entwicklung begriffen sei.

Nach ihm ist der chronische Verlauf der Vorinfektion selbst durch die sofort mit dieser einsetzenden Depressionsimmunität bedingt. Die Depressionsimmunität ist also nicht das Ergebnis einer chronischen Infektion: das Chronischwerden einer akuten Infektion ist vielmehr die Folge der Depressionsimmunität.

Meine nachstehenden Versuche sollen dazu dienen, obige Angaben durch Infektion mit genau dosierten Milzbrandsporen hauptsächlich an Mäusen und Meerschweinchen nachzuprüfen.

Versuch I mit Sporen vom Milzbrandstamm II an weißen Mäusen.

Es wurden 5 Versuchsreihen mit je 4 weißen Mäusen ausgeführt; am 11. X., 12. X., 13. X., 14. X. und 15. X. wurden je 4 Tiere, im ganzen 20 Mäuse, mit 30 Milzbrandsporen subkutan infiziert. Von diesen 20 Versuchstieren starben 4 vor der 2. Infektion und fallen weg. Die übrigen 16 wurden am 15. X., gleichzeitig mit 4 Kontrollmäusen, mit 650 Sporen zum zweitenmal infiziert. Die Tiere der ersten Serie wurden am 4., diejenigen der 2. Reihe am 3. Tage, diejenigen der 3. Reihe am 2. Tage, diejenigen der 4. Reihe am 1. Tage, die 5. Reihe 6 Stunden nach der ersten Infektion superinfiziert.

15. X. 1920:	Reihe I	nach 4 Tagen	} Nachinfektion mit 650 Sporen vom Milzbrandbazillens-tamm II.
	Reihe II	„ 3 „	
	Reihe III	„ 2 „	
	Reihe IV	„ 1 Tage	
	Reihe V	„ 6 Stunden	

Am 16. X. starben 3 Mäuse aus der I., 2 aus der IV. Reihe. Am 17. X. waren 2 Mäuse aus Reihe II, 3 aus III, 2 aus IV und eine aus V tot. Am 3. Tage nach der Superinfektion (18. X. 1920) verzeichnen wir folgendes Resultat:

Reihe I	(Superinfektion nach 4 Tagen)	alle tot
Reihe II	(„ „ 3 „)	„ „
Reihe III	(„ „ 2 „)	„ „
Reihe IV	(„ „ 1 Tage)	„ „
Reihe V	(„ „ 6 Stund.)	2 Mäuse tot, 2 am Leben.

Von den Kontrollen sind 2 tot, 2 am Leben; am 4. und 5. Tage stirbt je eine Kontrolle, am 6. Tage eine Maus aus Reihe V, eine ist noch am Leben. Die gestorbenen Mäuse haben alle wie die Kontrolltiere in Milz und Herzblut reichlich Milzbrandbazillen. Am Leben geblieben ist eine Maus aus Reihe V, welche erst am 13. Tage zugrunde geht. Dieses ist zwar der einzige Fall, doch bemerkenswert, weil bei allen unseren Versuchen alle Mäuse ausnahmslos innerhalb 8 Tagen gestorben sind.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß von den 20 Versuchs- und von den 4 Kontrolltieren sämtliche mit einer einzigen Ausnahme innerhalb 6 Tagen nach der 2. „Super“-Infektion gestorben sind. Nur eine Maus blieb 13 Tage, d. h. 7 Tage länger als alle übrigen Versuchstiere, am Leben und starb ebenfalls an Milzbrand.

Versuch II mit Sporen von Milzbrandstamm II an weißen Mäusen.

Hier wurde der Versuch mit einer noch geringeren Zahl von Milzbrandsporen ausgeführt.

19. X. 1920	Reihe I	4 Mäuse mit 5 Sporen subkutan
19. „ „	} Reihe II	4 „ „ 5 „ „
20. „ „		4 „ „ 7 „ „
21. „ „		4 „ „ 8 „ „
20. „ „	Reihe III	4 „ „ 7 „ „
21. „ „	Reihe IV	4 „ „ 8 „ „
22. „ „	Reihe V	4 „ „ 8 „ „

Am 22. X. erhalten sämtliche Mäuse, gleichzeitig mit 4 Kontrollen, 130 Sporen subkutan. Der Zwischenraum zwischen der ersten und der letzten Injektion beträgt bei Serie I und II 3, bei Serie III 2, bei Serie II 1 Tag und bei der letzten Serie nur 6 Stunden.

Am 1. Tage waren eine Maus aus Reihe II, am 2. Tage 2 aus Reihe I, je 1 aus Reihe II, IV und V, 3 aus Reihe III tot; am 3. Tage gingen je 2 aus Reihe I und II, 1 aus Reihe V und auch alle 4 Kontrollen zugrunde. Am 3. Tage nach der Superinfektion (25. X. 1920) zeigt der Versuch folgendes Bild:

Reihe I (Superinfektion	nach 3 Tagen)	alle tot
Reihe II („ [wiederholt] „ 3 „) „ „		
Reihe III („ „ 2 „) 3 Mäuse tot, 1 am Leben		
Reihe IV („ „ 1 Tage) 1 Maus tot, 3 „ „		
Reihe V („ „ 6 Stund.) 2 Mäuse tot, 2 „ „		

Kontrollen: alle 4 Mäuse tot.

Alle 4 Kontrollen gingen am 3. Infektionstage zugrunde, von denen 2 Diplokokken (Mischinfektion). 2 Milzbrandkulturen zeigten. Am 4. Tage starb 1 Maus aus Reihe IV, 2 aus Reihe V; am 5. Tage je 1 aus Reihe III und IV; am 6. Tage kam schließlich die letzte Maus aus Reihe IV ad exitum. Die Kulturen von allen Mäusen erwiesen sich als positiv. In diesem Versuche starben von den 20 Versuchstieren 6 Mäuse später als die Kontrollen.

Versuch III.

In diesem Versuch werden nur 2 Sporen injiziert.

2. XI. 1920	Reihe I	4 Mäuse	} subkutan mit 2 Sporen vom Milzbrand- bazillenstamm II.
3. „ „	Reihe II	4 „	
3. „ „	Reihe I	nach 24 Stunden	} Nachinfektion mit 10 Sporen vom Milzbrandbazillenstamm II.
	Reihe II	„ 6 „	

Gleichzeitig werden 4 Kontrollmäuse mit nur 10 Sporen infiziert. Am 3. Tage ist zuerst 1 Kontrolle tot, am 4. Tage 3 Mäuse aus Reihe II und 2 Kontrollen. Am 5. Tage stirbt je 1 Maus aus Reihe I und die übrigen Kontrollen; am 6. Tage 2 aus Reihe I, am 7. Tage 1 aus Reihe II. Schließlich ging die letzte Maus aus Reihe I. und zwar erst am 19. Tage zugrunde; sie überlebte also die Kontrollen 15 Tage lang. Die Kulturen von allen gestorbenen Mäusen ergaben Milzbrandbazillen in Reinkultur.

Versuch IV.

Da unser Milzbrandstamm II zu virulent war, versuchten wir die Vorbehandlung mit etwas weniger virulentem Material, und zwar mit aus dem Institut Pasteur bezogenen Milzbrandvakzin II. Für die Superinfektion wurde unser früherer Stamm verwendet.

22. XI. 1920	Reihe I	3 Mäuse subkutan mit 2 Sporen vom Pasteur-
		Milzbrandvakzin II
23. „ „	Reihe II	3 Mäuse mit 10 Sporen Milzbrandvakzin
	Reihe III	3 „ „ 2 „ „ II
26. „ „	Reihe I	nach 4 Tagen mit 115 Sporen
		vom Milzbrandstamm II
	Reihe II	nach 3 Tagen mit 1 Spore vom
		Milzbrandstamm II
	Reihe III	nach 3 Tagen mit 10 Sporen
		vom Milzbrandstamm II

} subkutan
nachinfiziert

Gleichzeitig wurden je 2 Kontrollmäuse mit 115, 10, 1 Sporen infiziert. Am 7. Tage der Superinfektion (3. XII. 1920) war das Resultat folgendes:

Reihe I (Superinfektion nach 4 Tagen) alle Mäuse tot
 Reihe II (" " 3 ") 1 Maus tot, 2 am Leben
 Reihe III (" " 3 ") 3 Mäuse tot

3 Kontrollen starben am 6. Tage, die anderen 3 am 7. Tage. Alle gestorbenen Mäuse nebst allen Kontrollen zeigten typischen Sektionsbefund und Milzbrandbazillen in Reinkultur. Zwei überlebende Mäuse aus Reihe I wurden am 28. Tage getötet; keine Milzbrandbazillen nachweisbar.

Versuch V.

Zur 1. Infektion dienten Sporen von Pasteurvakzin I; die 2. Infektion erfolgte mit Sporen vom Milzbrandstamm II.

29. XI. 1920, Reihe I	3 Mäuse	} subkutan mit 40 Sporen von Pasteurs Milzbrand- vakzin I	} Reihe A
30. " " " II	3 "		
1. XII. " " III	3 "		
2. " " " IV	3 "		
3. " " " V	3 "		
29. XI. 1920, Reihe I	3 Mäuse	} subkutan mit 5 Sporen von Pasteurs Milzbrand- vakzin I	} Reihe B
30. " " " II	3 "		
1. XII. " " III	3 "		
2. " " " IV	3 "		
3. " " " V	3 "		

Sämtliche 30 Mäuse erhalten gleichzeitig mit 3 Kontrollen 200 Sporen vom Milzbrandstamme II subkutan am 3. XII.

Am 4. Tage nach der Superinfektion (7. XII. 1920) war das Versuchsbild folgendes:

	Reihe A	Reihe B
Reihe I (Superinf. am 4. Tage)	1 Ms. tot, 2 am Leben	2 Ms. tot, 1 am Leben
" II (" " 3. ")	1 " " 2 " "	alle 3 Ms. " "
" III (" " 2. ")	1 " " 2 " "	1 Ms. tot, 2 " "
" IV (" nach 24 Std.)	2 " " 1 " "	alle 3 Mäuse tot
" V (" " 6 ")	alle 3 Mäuse tot	1 Ms. tot, 2 am Leben

Alle Kontrollen starben am 4. Tage.

Am 5. Tage gingen aus Reihe A je 2 Mäuse aus Reihe II und III, eine Maus aus Reihe IV zugrunde; am 7. Tage starb eine aus Reihe I, eine blieb am Leben. Am 5. Tage waren aus Reihe B alle Mäuse tot.

Die letzte überlebende Maus aus Reihe A wurde am 21. Tage getötet; keine Milzbrandbazillen.

Versuch VI an Meerschweinchen.

1. Infektion mit Sporen von Pasteurs Milzbrandvakzin I, 2. Infektion mit Sporen vom Milzbrandstamm II.

29. XI.	1920,	No. 38,	Gew. 450 g	} subkutan mit 40 Sporen von Pasteurs Milzbrandvakzin I
"	"	"	39 " 430 "	
30.	"	"	40 " 415 "	
"	"	"	41 " 415 "	
1. XII.	"	"	42 " 385 "	
"	"	"	43 " 390 "	

Am 2. XII. 1920:

No. 38	nach 3 Tagen	} Nachinfektion mit 364 Sporen vom Milzbrand- stamm II
" 40	" 2 "	
" 42	" 1 Tage	
No. 39	nach 3 Tagen	} Nachinfektion mit 187 Sporen vom Milzbrand- stamm II
" 41	" 2 "	
" 43	" 1 Tage	

Bei diesem Versuche wurden gleichzeitig 1 Kontrollmeerschweinchen (465 g) mit 364 Sporen, ein anderes (440 g) mit 187 Sporen subkutan infiziert.

Am 3. Tage starben 2 Tiere und die Kontrollen, die anderen 4 (No. 38, 39, 40, 43) blieben am Leben. Am 4. Tage gingen No. 39 und 40 zugrunde. No. 43, das nach 1 Tage superinfiziert wurde, starb erst am 18. Tage. Die Sektion zeigte geringe Milzvergrößerung bei geringer Dunkelverfärbung und sterile Kultur. Ein überlebendes Meerschweinchen wurde am 22. Tage getötet. Milz mittelmäßig groß, wenig verfärbt, die Kulturen sind steril.

Wie aus den oben mitgeteilten 6 Versuchen zu entnehmen ist, lebten 26 superinfizierte Mäuse und 2 Meerschweinchen länger als die Kontrolltiere, und zwar:

bei Superinfektion	nach 6 Stunden	6 Mäuse	(1–8 Tage),
"	"	1 Tage	7 " (1–15 Tage, 1 über 17 Tage),
"	"	2 Tagen	5 " (1–2 Tage),
"	"	3 "	7 " (1 Tag, andere 2 als Aus- nahme über 25 Tage),
"	"	4 "	1 Maus (1 Tag).

Wenn auch über den zeitlichen Verlauf der Immunität bei unseren subkutanen milzbrandkranken Tieren noch keine Gesetzmäßigkeit aufzustellen ist, so wurde doch nur die Andeutung der Tatsache beobachtet, daß die Immunität schon 24 Stunden, sogar schon 6 Stunden nach der 1. Infektion eintrat.

Ebenso merkwürdig ist auch das rasche Abklingen der Immunität. Während, wie der Versuch zeigt, am 4. Tage noch

mäßiger Schutz durch die Erstinfektion vorhanden ist, sind die Mäuse am 5. Tage nach derselben für die Nachinfektion voll empfänglich, und am 6. Tage überlebte kaum eines der vorbehandelten Tiere die Kontrollen.

Ein nicht weniger interessanter Punkt ist, daß der zeitliche Verlauf dieses Abklingens in Morgenroths Superinfektionsversuchen mit chronischen Streptokokken an Mäusen mit unseren Versuchen fast übereinstimmt.

Zusammenfassung.

1) In vorliegender Arbeit wird ein Verfahren zur genauen Dosierung von Milzbrandsporen mittels Aufschwemmen und Vermischen von Meersand angegeben.

2) Die Zahl der für den Tod des Versuchstieres erforderlichen Milzbrandsporen ist je nach den einzelnen Milzbrandstämmen und Tiergattungen verschieden. Während für einige Meerschweinchen eine ganz geringe Sporenzahl von unserem Milzbrandstamm genügte, um sie nach 4 oder 5 Tagen sicher zu töten, konnten andere 2—300 Sporen desselben Stammes ertragen. Die Ergebnisse sind bei Mäusen unregelmäßiger als bei Meerschweinchen; ein Parallelismus zwischen injizierter Sporenzahl und Lebensdauer nach der Infektion war nicht vorhanden; doch gingen alle Versuchsmäuse ausnahmslos innerhalb 8 Tagen zugrunde.

3) Bei Ratten war eine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber Milzbrandinfektion durch wiederholte Vorbehandlung mit Milzbrandsporen in unseren Versuchen nicht sicher nachzuweisen wegen der angeborenen Milzbrandimmunität derselben.

4) Die mehrmals wiederholten Superinfektionen mit geringer und mittlerer Sporenzahl bei Mäusen und bei Meerschweinchen hatten in unseren Versuchen keine Immunität zur Folge. Die Versuchstiere starben gleichzeitig oder früher an Milzbrand als die Kontrolltiere. Das Ueberstehen einer einmaligen und sogar einer fünfmaligen Infektion hat bei Meerschweinchen keine dauernde Immunität bedingt.

5) Währenddem die mehrmals wiederholte Infektion mit Milzbrandsporen keine Immunität zur Folge hatte, gelang es uns bei nur zweimaliger Infektion, d. h. bei Superinfektion

innerhalb kurzer Zeit, eine gewisse Erhöhung der Widerstandsfähigkeit nachzuweisen. Unsere Versuche zeigten, daß die Immunität ihren Ausdruck darin findet, daß die bei Kontrollmäusen akut oder subakut tödlich verlaufende Infektion in eine mehr chronische verwandelt wird.

6) Die Befunde Morgenroths und seiner Mitarbeiter über den zeitlichen Verlauf dieser Immunität wurden durch unsere Versuche nicht bestimmt bestätigt. Die Verhältnisse sind allerdings beim experimentellen Milzbrand andere als bei der Streptokokkeninfektion.

7) Die wichtige Annahme Morgenroths, daß die Phänomene der natürlichen Immunität, die spontanen Heilungsvorgänge bei Infektionskrankheiten, die Heilung von Infektionskrankheiten durch Vakzination usf. der Depressionsimmunität unterzuordnen sein dürften, muß jedoch noch durch weitere Untersuchungen nachgewiesen werden.

Es gereicht mir zur Ehre, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Silberschmidt meinen aufrichtigsten Dank für die vielfachen Anregungen und Unterstützungen auszusprechen, die er mir erwiesen hat.

Literaturverzeichnis.

- 1) Morgenroth, Biberstein, Schnitzer, Die Depressionsimmunität. Studien über Superinfektion mit Streptokokken. Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 13.
- 2) Willy Marchew, Experimentelle Untersuchungen über die Mindestzahl der zur tödlichen Infektion ausreichenden Milzbrandsporen und über Superinfektion. Inaug.-Diss. Zürich, 1918.
- 3) Berliner und Citron, Zur Frage der Depressionsimmunität. Studien über Superinfektion mit Hühnercholeraabazillen. Deutsche med. Wochenschrift, 1920, No. 36.
- 4) Fukuda, Experimentelle Untersuchungen über Milzbrandinfektion bei Ratten. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 84.
- 5) Landsteiner und Finger, Ueber Immunität bei Syphilis. Centralbl. f. Bakt., 1906, Ref., 38. Anh., p. 107.
- 6) Hall, On the immunity possessed by white rats against anthrax. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 66, 1912.
- 7) Bertarelli und Bocchia, Experimentelle Untersuchungen über die Zahl der Keime und die Infektion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 76, 1915, Heft 2/3.
- 8) Kolle und Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 1 und 2, 1913.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4918

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathol. Institut des Krankenhauses München-Schwabing
(Prof. Oberndorfer).]

**Zur Frage der Steigerung des Agglutinititers
durch große Blutentziehungen.**

Von Dr. **Richard Trommsdorff.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Februar 1921.)

In einer in dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeit von Hahn und Langer¹⁾ war über Versuche berichtet worden, in denen bei Kaninchen eine ungeheure Vermehrung der Immunagglutinine durch täglich wiederholte Aderlässe erzielt worden war. Es waren in 4 Versuchen (mit Typhus-, Paratyphus- und Dysenteriebazillen) Steigerungen des Agglutinititers bis zum 250 000-fachen Wert des Anfangstiters (bis zu einem Titerwert von 3—128 Millionen) beobachtet worden.

Diese Angaben mußten, abgesehen von dem theoretischen Interesse, das sie boten — es wurde nur eine Vermehrung der Immunagglutinine, nicht aber der Präzipitine und Hämolyse beobachtet — vor allem den Praktiker interessieren. Bei Nachprüfungen, soweit solche bisher veröffentlicht wurden, konnten aber die Resultate nicht bestätigt werden.

Landau²⁾ prüfte die Methode in Versuchen mit Cholera-, Paratyphus B- und Dysenteriebazillen bei 7 Kaninchen, ohne daß es in einem Falle gelang, den Agglutinationstiter durch Blutentziehungen zu erhöhen; zumeist sank derselbe vielmehr, namentlich nach den ersten Blutentnahmen. Und zu denselben negativen Ergebnissen kam Klinger³⁾, der genau nach der Angabe von Hahn und Langer bei 6 mit Typhus- und Paratyphusbazillen immunisierten Kaninchen vorgeh. Auch ihm gelang es in keinem Falle — obwohl er verschieden alte Tiere (zwischen 3 und 6 Wochen) benutzte und mit den Blutentziehungen nach verschieden gewählten Pausen (3—6 Wochen) nach der Immunisierung einsetzte — eine Titersteigerung zu

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 199.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86, 1918, p. 260.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 27, 1918, p. 532.

erzielen; es trat vielmehr, wie bei den Versuchen von Landau, auch hier meist eine zwar geringfügige, aber deutliche Abschwächung des Agglutinin-gehaltes ein.

Bei diesem Stand der Dinge dürfte es daher, da ich ebenfalls, kurz nach der Veröffentlichung der Arbeit von Hahn und Langer, die von diesen Autoren angegebene Methode der Agglutinititersteigerung versuchte und meine Versuche eine gewisse Bestätigung der Ergebnisse von Hahn und Langer ergaben, berechtigt sein, diese, obwohl es sich nur um 2 Versuche handelte, zu veröffentlichen.

Es handelte sich bei meinen Versuchen um Gewinnung agglutinierender Sera gegen Diphtheriebazillen, mit denen es bekanntlich nur schwer gelingt, hochwertige agglutinierende Sera zu gewinnen, eine Methode, den Titer zu steigern, also sehr zu begrüßen gewesen wäre. Verwendet wurden zur Immunisierung bei 56° abgetötete Bacillen, die intravenös verabreicht wurden. Bei beiden Versuchen erhielten die Tiere innerhalb 4 Wochen 4 Immunisierungsdosen, und 10 Tage nach Verabreichung der letzten wurde mit den Blutentnahmen begonnen. Die Prüfung der Agglutination geschah makroskopisch in Blockschälchen.

Versuch I.

Diphtheriestamm 2. Immunisierung am 4., 13., 22. II. und 1. III. 1918.

11. III.	nachm.	20 ccm	Blut entnommen.	Titer	160 +, 320	Spur.
12. III.	"	15	" " "	"	2500 +, 5000	schwach +.
13. III.	"	10	" " "	"	2500 +, 5000	" +.
14. III.	"	30	" " "	"	1250 +, 2500	Spur.
15. III.	vorm.	$\frac{1}{2}$ 9 Uhr	(in Agone) Blutentnahme.	Titer	1250 +, 2500	Spur.

Versuch II.

Diphtheriestamm 6. Immunisierung am 1., 13., 22. II. und 1. III. 1918.

11. III.	nachm.	18 ccm	Blut entn.	Titer	0!			
12. III.	"	15	" "	"	160 +,	320 schw. +,	640 Spur.	
13. III.	"	20	" "	"	160 +,	320 " +,	640 "	
14. III.	"	20	" "	"	640 +,	1250 " +.		
15. III.	"	20	" "	"	640 +,	1250 " +.		
16. III.	"	Blutentnahme.		"	640 schwach +,	1250 Spur.		

Bei dem Versuch I wies also das 10 Tage nach der letzten Immunisierung entnommene Blut einen Titer von 1:160 (320) auf, der am nächsten Tag auf 1:2500 stieg, über welche Höhe er allerdings auch nach weiteren Blutentnahmen nicht mehr stieg.

Bei Versuch II zeigte das 10 Tage nach der letzten Immunisierung entnommene Blut noch den Titer 0, am nächsten Tag aber bereits 1:160 (320, [640]), nach der 3. Blutentziehung 1:640 (1250), welcher Titer sich dann auch bei weiteren Blutentnahmen nicht mehr erhöhte.

In den beiden Versuchen ist also zweifelsohne eine beträchtliche Steigerung des Agglutinationstiters eingetreten;

besonders auffallend ist dabei der Versuch II, bei dem der Agglutinationstiter 10 Tage nach der 4. Immunisierungsdosis noch 0 war, und erst gewissermaßen durch die Blutentziehung hervorgehoben wurde.

Die mitgeteilten Versuche bestätigen also die von Hahn und Langer veröffentlichten Ergebnisse, daß durch große Blutentziehungen eine beträchtliche Vermehrung des Agglutinationstiters herbeigeführt werden kann. Wodurch es bedingt ist, daß dies nicht regelmäßig eintritt, bedarf weiterer Erforschung.

Zusammenfassung.

In 2 Versuchen mit Diphtheriebazillen konnte die von Hahn und Langer mitgeteilte Tatsache namhafter Erhöhung des Titers der Immunagglutinine bei Kaninchen durch große Blutentziehungen bestätigt werden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Universitäts-Institut zu Marburg a. L.
(Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Bonhoff).]

Beiträge zur Theorie und Praxis der Sachs-Georgi- und Wassermann-Reaktion.

Von Dr. Joseph Tannenberg.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. März 1921.)

In der Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 43, bringt Pesch (33) eine Zusammenstellung von 31000 Fällen, in denen von 30 Autoren die von Sachs und Georgi angegebene Reaktion ausgeführt worden ist. Dabei ergibt sich eine Uebereinstimmung mit der Wassermann-Reaktion, der Standard-Reaktion aller Luesreaktionen, wie sie Sachs nennt, in 89,6 Proz. bei 10,4 Proz. Divergenz. Die Uebereinstimmung mit der Wa.R. wäre jedenfalls noch größer, wenn man nur die Untersuchungen berücksichtigt hätte, die nach der später angegebenen Brutschrankmethode ausgeführt worden sind. Wenn auch der Wert einer Luesreaktion, wie viele Autoren hervorheben, nur an ihrer Uebereinstimmung

26*

mit den Befunden des Klinikers gemessen werden kann, so wird doch die weitgehende Uebereinstimmung der Reaktion mit der Wa.R. bei einer solch großen Anzahl von Fällen der S.-G.R., bei ihrer großen Einfachheit der Ausführung, den Eingang in alle serologischen Untersuchungsstätten sichern. Es erhebt sich nun die Frage, ob die Reaktion durch dieselben Körper hervorgerufen wird, die auch die Komplement-inaktivierung bei der Wa.R. herbeiführen, oder ob im Luetiker-serum noch andere Körper vorhanden sind, die dann offenbar ebenso spezifisch für Lues sein müssen.

Sachs (35) führt eine Reihe von Tatsachen an, welche seine Ansicht, daß es sich bei beiden Methoden primär um das gleiche Prinzip der Reaktionsfähigkeit des Syphilitiker-serums mit Lipoidgemischen von geeignet kolloid-chemischer Beschaffenheit handelt, stützen, wie z. B. derselbe Einfluß der Extraktverdünnung auf die Empfindlichkeit der Reaktion, die gleichsinnige Bedeutung des Cholesterinzusatzes, der gleichsinnige Einfluß der Reaktion des Mediums, die gleichsinnige Bedeutung thermischer Einflüsse bei beiden Reaktionen. Diese experimentell erhärteten Tatsachen sind in Verbindung mit der weitgehenden Uebereinstimmung beider Verfahren eine starke Stütze für diese Auffassung. Auf gewisse Divergenzen, die zwischen der Wa.R. und der S.-G.R. bestehen, weist Sachs bereits selbst hin, so auf das abweichende Verhalten der aktiven Sera bei beiden Reaktionen, das aber damit erklärt wird, daß im aktiven Serum infolge der höheren Labilität der Globuline, die mit Organextrakten zwar andersartig wie das Syphilitiker-serum, aber auch im Sinne einer Komplement-inaktivierung reagieren, eine positive Wa.R. erzeugt wird, ohne daß es nötig wäre, daß der Vorgang bis zur sichtbaren Präzipitation fortschreitet.

Sachs (35) hält die Globulinveränderungen in „statu nascendi“ für den günstigsten Augenblick für die Komplement-inaktivierung bei der Wa.R., und er erklärt die Tatsache, daß dieser Vorgang sich nicht stets bis zur sichtbaren Präzipitation fortsetzt, durch die hemmende Wirkung des aktiven Meer-schweinchensersums, das ja bei der Wa.R. ein integrierender Bestandteil ist. Diese Erklärung scheint überzeugend, denn neuere experimentelle Untersuchungen Felkes (5) sprechen

in demselben Sinne. Sachs (35) geht sogar so weit, daß er annimmt, der Zusatz des Meerschweinchenserums könnte der Grund sein, daß bei Luetikerserum die Wa.R. infolge dieser hemmenden Wirkung negativ ausfalle, während die S.-G.R., wobei diese Hemmungsquelle fehlt, positiv sei. Aus experimentellen Untersuchungen Neukirchs (31) wird weiterhin die Auffassung von Sachs gestützt, daß die erste Phase des Zusammenwirkens zwischen Extrakt und Patientenserum für die Komplementinaktivierung die günstigste ist, und daß die Bedingungen, je mehr sich dieser Vorgang der sichtbaren Präzipitation nähert, um so ungünstiger für die Komplementinaktivierung werden. So werden einleuchtend die bestehenden Unterschiede in den Ergebnissen der Wa.R. und der S.-G.R. erklärt.

Neuerdings veröffentlicht Wendtlandt (46) experimentelle Untersuchungen, die in dem Sinne gedeutet werden, daß ein enger Zusammenhang zwischen beiden Reaktionen nicht bestehe. Wendtlandt stellte vergleichende Untersuchungen zwischen S.-G.R. und Wa.R. an:

1) Bei Serum von Pferden, Rindern, Hammeln, Ziegen, Kaninchen und Meerschweinchen;

2) Prüfte er die Hitzebeständigkeit der Körper, welche die Wa.R. und die S.-G.R. auslösen, durch nochmaliges Erhitzen der Sera auf 56° 60° 64° und 68° nach vorherigem Verdünnen derselben mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:5.

Bei der ersten Untersuchungsreihe findet der Verfasser keinen Parallelismus zwischen den beiden Reaktionen, bei der zweiten stellte sich heraus, daß die Wa.R. nach Erhitzen der verdünnten Sera noch ausgelöst wird, während die S.-G.R. früher negativ wird. Aus diesen Untersuchungen zu schließen, daß es verschiedene Körper sind, welche die beiden Reaktionen auslösen, halten wir nicht für notwendig; denn die positive Wa.R. bei Tierseris läßt sich verstehen, wenn man als Ursache eine gewisse Labilität der Globuline anspricht, die zwar im Sinne einer Komplementinaktivierung wirkt, aber nichts mit der echten Wa.R. im Luetikerserum gemein hat. Ebenso werden auch von Gloor und Klinger (12), Nathan (29) u. a. die unspezifische Wa.R. im Serum von Infektionskranken

und die durch künstliche Einflüsse wie Zusatz von Bakterienaufschwemmung, Kaolin und durch andere Zusätze hervorgerufene, positive Reaktion in negativen Seris durch die Annahme erklärt, daß entweder eine größere Labilität der Globuline besteht, oder eine Alteration derselben durch diese Zustände geschaffen wird, die zum Komplementschwund führt. Daraus, daß ein nur im Erfolg gleicher, in den Ursachen aber verschiedener Vorgang sich abspielt, darf man nicht ohne weiteres die positive Wa.R. in Tierseris mit der echten Wa.R. auf eine Stufe stellen und verlangen, daß ein Vorgang, die S.-G.R., welche nur die gleichen Ursachen mit der echten Wa.R. gemein haben kann, auch positiv ist, wenn eine auf anderen Gründen beruhende, positive Wa.R. eintritt. Umgekehrt könnte man vielmehr aus dem negativen Ausfall der S.-G.R. der Tiersera schließen, daß es sich im Falle der positiven Wa.R. bei ihnen um andere Körper handelt als um die, welche die echte Wa.R. geben. Ebenso spricht die zweite Versuchsreihe Wendtlands nicht zwingend für seine Ansicht. Dafür, daß die Wa.R. noch nach höherem Erhitzen positiv bleibt als die S.-G.R., ergibt sich eine Erklärung aus der Annahme von Sachs, daß der Vorgang der Dispersitätsvergrößerung nicht unbedingt stets bis zur sichtbaren Präzipitation fortschreiten muß. Andererseits ist auch aus den Untersuchungen Wendtlands (46) sowie Stillings (42) ersichtlich, daß bei höherem Erhitzen sowohl Wa.R. wie S.-G.R. an Positivität abnehmen, letztere nur in stärkerem Grade. Man könnte also direkt von einem Parallelismus bis zu einem gewissen Grade bei beiden Reaktionen sprechen.

Auch Mandelbaum (23) führt Forschungsergebnisse an, die nicht im Sinne eines Parallelismus beider Reaktionen gedeutet werden. Zunächst stellte er fest, daß es nicht an dem Komplementgehalt des aktiven Serums liegt, wenn damit die S.-G.R. gar nicht oder schwächer auslösbar ist, als mit inaktivierten. Es zeigte sich nämlich, daß nach der Komplementvernichtung durch 24-stündiges Bebrüten der Sera bei 37° die S.-G.R. noch ebenso schwach ausfiel wie im aktiven Serum. Es ist also offenbar nicht die Aktivität, wenn man darunter die komplettierende Kraft des Serums begreift, welche den Reaktionsvorgang hemmt, sondern Eigenschaften, die den

nicht durch Hitze stabilisierten Globulinen zukommen, wie Gloor und Klinger (12) und neuerdings Felke (5) gezeigt haben. Weiterhin fällt Mandelbaum (23) aus aktivem Serum die Globuline durch Kohlensäure aus, nach fünffacher Verdünnung des Serums mit Aqua dest., und konnte durch Zusatz einer der Serummenge gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung in dem so wieder aufgelösten Globulin auch nach Erwärmen auf 56° keine charakteristische S.-G.R. anstellen, während er damit nach Erwärmen auf 56° wohl die Wa.R. mit charakteristischen Resultaten anstellen konnte. In der zurückbleibenden und wieder zu einem Kochsalzgehalt von 0,85 Proz. aufgesalzenen Restflüssigkeit konnte er stets die charakteristische S.-G.R. anstellen. Mandelbaum zieht aus der Tatsache, daß in der Restflüssigkeit noch die S.-G.R. anstellbar ist, die Folgerung, daß dabei nicht Globuline, die ja nicht mehr vorhanden sein können, sondern nur Lipoidgemische ausflockten.

Diese Annahme in Verbindung mit Farbenuntersuchungen Meinickes (24), die damit scheinbar im Widerspruch standen, veranlaßten uns zu einer Nachprüfung der Ergebnisse. Meinicke hatte Extrakte mit Sudan IV gefärbt und damit Versuche seiner Methode angesetzt, und zwar mit steigend verdünnten Serummen gen bis zu einer Verdünnung von 1:320 und 1:640, und erhielt nach Bebrüten von 24 Stunden bei 37° einen Niederschlag, der in den hohen Verdünnungen oft massiger als im unverdünnten Serum war, und in den hohen Verdünnungen einen rein rot gefärbten Niederschlag aufwies bei farbloser, freier Flüssigkeit, während der Niederschlag im unverdünnten Serum nur ganz schwach rosa gefärbt war bei tiefrot gefärbter, opalisierender, darüberstehender Flüssigkeit. Meinicke nimmt nach diesen Versuchen an, daß die Flocken des unverdünnten Serums, welche sich nur schwach färbten, aus einer kochsalzlöslichen Globulinkomponente und einer kochsalzbeständigen Lipoidkomponente bestehen, und er hält weiter den gutgefärbten Niederschlag in den stark verdünnten Seris für reine Lipoidflocken. Er erklärt sich diesen massigen Niederschlag dadurch, daß die geringe Serummenge bei den genannten hohen Verdünnungen nicht mehr genügend als Schutzkolloid für die Extraktlipoide dienen könne, und daß

diese infolgedessen auf Kochsalzzusatz besonders leicht ausfielen.

Der Widerspruch, der zutage tritt zwischen der Annahme Meinickes, welcher in dem Niederschlag bei seiner Reaktion Flocken sieht, die aus einer Lipoid- und Globulinkomponente bestehen, und der Annahme Mandelbaums, der nur Lipoidflockung anerkennt bei der S.-G.R., die offenbar als eine Modifikation der zweizeitigen Meinicke-Reaktion ihrem Wesen nach aufgefaßt werden kann, veranlaßte uns zu ähnlichen Untersuchungen in beiden Richtungen.

Inaktivierte Wassermann- und Sachs-Georgi-Reaktion, positive und negative Sera wurden 1:5 mit Aqua dest. verdünnt, und durch durchgeleitete Kohlensäure wurden die Globuline ausgeflockt. Es wurde zentrifugiert, die Restflüssigkeit wurde mit der Pipette abgesaugt, die Globuline wurden dreimal mit Aqua dest. gewaschen. Darauf wurden die Globuline aus 1,0 Serum mit 1,5 phys. Kochsalzlösung versetzt, aufgelöst und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am nächsten Morgen wurden die Röhren wieder scharf zentrifugiert, um unbedingt eine klare Lösung zu erhalten, in welcher nichts mehr suspendiert war, und mit je 0,5 dieser Globulinlösung, sowie je 0,5 der durch entsprechenden Zusatz einer 10-proz. Kochsalzlösung wieder isotonisch gemachten Restflüssigkeit wurden die Wa.R. und die S.-G.R. angesetzt.

Bei den sowohl stark Wa.R. wie S.-G.R. positiven Seren war die S.-G.R. sowohl in der Globulinlösung wie auch in der

		Restflüssigkeit		Globulinlösung		Vollserum	
		S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.
Stark	} 122	++	Deutliche Hemmung	++	Deutliche Hemmung	++++	+
Wa.R. u.							
S.-G.R. +	} 155	++	Deutliche Hemmung	++	Deutliche Hemmung	++++	+
Sera							
Schwach	} 135	—	—	+	Merkl. Spur Hemmung	+	+
Wa.R. u.							
S.-G.R. +	} 109	+	Spur Hemmung	—	dgl.	+—+?	1 Extr. + 1 „ —
Sera							
S.-G.R. u.	154	—	—	—	—	—	—
Wa.R.	148	—	—	—	—	—	—
—Sera	135	—	—	—	—	—	—
S.-G.R. +++	} 128	++	Kompl. Hemmung	—	+++	—	Eigenhemmg.
Wa.R. Eigenhemmung							

Restflüssigkeit positiv, wenn auch in beiden schwächer als ursprünglich im Vollserum. Ebenso ergaben beide Fraktionen der Sera beim Anstellen der Wa.R. deutliche Hemmung der Hämolyse.

Bei den schwach positiven Seren 105 und 109 war die S.-G.R. in der Globulinlösung einmal negativ (105), sonst schwach positiv (109). In der Restflüssigkeit war sie bei 105 positiv angedeutet, bei 109 negativ. Die Wa.R. ergab in der Globulinlösung noch eine merkliche Spur Hemmung, während in der Restflüssigkeit nur bei Serum 109 noch Hemmung vorhanden war.

Die negativen Seren 154, 148 und 135 ergaben in beiden Fraktionen weder positive S.-G.R. noch positive Wa.R. —

Ein S.-G.R. stark positives und bei der Wa.R. Eigenhemmung zeigendes Serum ergab in der Globulinlösung sowohl ein negatives Ergebnis bei der Wa.R. wie bei der S.-G.R., aber in der Restflüssigkeit eine positive S.-G.R. und ausgesprochene Hemmung der Hämolyse.

Bei Wiederholung des Versuches mit Seren, die etwa 14 Tage bis 3 Wochen gelagert hatten, unter den gleichen Versuchsbedingungen, ergab sich das gleiche Resultat.

Ursprüngl. Reakt. im Vollserum		Vollserum		Restflüssigkeit		Globulinlösung		
Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.	
+	+++	+	+++	Kompl. Hemmg.	++/+++	Kl. Spur Hemmg.	+	140
+	++++	+	++++	Kompl. Hemmg.	++/+++	Kompl. Hemmg.	++/+++	29
+	+++	+	+++	Kompl. Hemmg.	++	Kompl. Hemmg.	+	137
+	++	+	+++	Kompl. Hemmg.	+	Kompl. Hemmg.	+	9
schwach +	+—+?	schwach +	+—+?	Kompl. Hemmg.	++	—	+?	96
—	?	—	+*	—	—	—	+	114
—	—	Spur Hemmg.	+*	—	—	Spur Hemmg.	+	163
—	—	—	+*	—	—	—	+	161
—	—	—	+*	—	—	—	+	161
—	—	—	?*	—	—	—	—	167

* Auch die Alkoholkontrolle war +—?.

In der Restflüssigkeit zeigten alle positiven Seren eine komplette Hemmung der Hämolyse bei der Wa.R. und gleichfalls einen mehr weniger starken positiven Ausfall der S.-G.R.

Die Globulinlösung ergab bei drei stark nach beiden Reaktionen positiven Seren eine positive S.-G.R., aber schwächer als in der Restflüssigkeit. Bei der Wa.R. zeigte nur ein Serum keine Hemmung, die beiden anderen eine deutliche, aber nicht ganz komplette Hemmung.

Die Globulinlösung der schwach-positiven Sera ergab einmal positive S.-G.R. und komplette Hemmung bei der Wa.R., beim letzten Serum fragliche S.-G.R. und Hämolyse.

Die negativen Seren zeigten alle in der Restflüssigkeit eine negative S.-G.R. und negative Wa.R., in der Globulinlösung ergaben alle eine leicht positive S.-G.R. und ein Serum auch eine Spur Hemmung der Hämolyse.

Bei den positiven Seren zeigte sich hiernach sowohl in der Restflüssigkeit wie in der Globulinlösung beim Anstellen der Wa.R. und der S.-G.R. ein strenger Parallelismus. In der zweiten Versuchsreihe zeigte sich bei den negativen Seren noch ein interessanter Nebebefund: in fast allen Seren war in der Globulinfraktion bei der Wa.R. eine leichte Hemmung eingetreten. Die gleichzeitig angesetzte S.-G.R. mit dem Vollserum ergab sowohl mit dem Lipoidextrakt wie in der Alkoholkontrolle positive bis zweifelhafte Reaktion. Es ist von Interesse, festzustellen, daß diese unspezifischen Reaktionen, welche auf das längere Lagern des Serums zurückgeführt werden, sich nur in der Globulinfraktion abspielten. Dieser Befund deckt sich mit den bereits erwähnten Ergebnissen Gloor und Klingers (12) und Nathans (29).

Mit Mandelbaum stimmen unsere Ergebnisse überein, soweit es sich um die Restflüssigkeit, die Albuminfraktion handelt. Allerdings gibt Mandelbaum nicht an, ob er auch damit die Wa.R. angestellt und charakteristische Ergebnisse erhalten hat. Im Gegensatz stehen unsere Untersuchungsergebnisse in der Globulinfraktion mit denen Mandelbaums, denn auch hier konnten wir einen sogar recht engen Parallelismus zwischen Wa.R. und S.-G.R. feststellen. Gloor und Klinger (12) konnten in Untersuchungen an größerem Material erweisen, daß die Globuline nicht wie bisher, besonders

nach den Untersuchungen von Ulrich Friedemann (8), Sachs' (35) und seiner Schüler, angenommen wurde, allein die Träger der Wa.R. sind, sie wiesen nach, daß die Globuline allein die Träger der für Lues nicht charakteristischen Wa.R. seien, wie sie bei aktiven Seren, bei manchen Infektionskrankheiten, durch künstliche Eingriffe etc. auftreten, und sie konnten zeigen, daß diese nicht spezifische Wa.R. nach der Ausfällung der Globuline verschwindet. Sie stellten weiter fest, daß die Globuline auch die echte Wa.R. leichter geben als die Albuminfraktion und halten sie für besonders wichtig zur Verstärkung bei den Flockungsreaktionen, die sie bei der Albuminfraktion nur mit einzelnen stark positiven Seren anstellen konnten. Sie sehen das Wesen der echten Wa.R. in der Anwesenheit von Teilchen, die durch besondere chemische Affinitäten zu den Extraktflächen ausgezeichnet sind. Diese Affinität soll wahrscheinlich dadurch zustande kommen, daß bei den durch Spirochäten bedingten Zellveränderungen Abbauprodukte auftreten, und indem diese sich an die kolloidalen Oberflächen der Eiweißteilchen des Blutes binden, sollen sie eine Affinität dieser Teilchen zum Extrakt schaffen.

In einer eben erschienenen Arbeit berichtet Felke (5) darüber, daß er in den Albuminfraktionen ohne Globulin nicht wesentlich schwächere S.-G.R. erhielt als in den inaktivierten Vollseren. Felke sieht auf Grund seiner Untersuchungen den Sitz der spezifischen Luesreagine überhaupt nur in den Albuminen, wenn auch die Globuline einen Teil derselben beim Ausfallen mitreißen, wie er annimmt.

Gleichzeitig mit den Untersuchungen der Globulin- und Albuminfraktion wurden nach dem Vorbild Meinickes bei seiner zweizeitigen Methode auch bei der S.-G.R. Farbversuche angestellt.

Es wurde von Sudan III eine heißgesättigte alkoholische Lösung hergestellt. Mit 0,2 ccm dieser Lösung wurden die Reaktionsgemenge von positiven Seren versehen im Volumen von 1,5 ccm. — Ebenso wurde 0,2 ccm der Lösung zu 1,5 ccm eines nach Art des Meinickeschen Vorversuches¹⁾ zur Feststellung der Brauchbarkeit eines Extraktes hergestellten Gemenges aus 0,75 ccm Organextrakt mit 0,75 ccm physiol. Kochsalzlösung hinzugesetzt. Nach Einwirkung der Farbe von mehreren Stunden wurden die Röhrechen zentrifugiert.

1) Cf. weiter unten.

Es ergab sich nun in zahlreichen Fällen, daß bei den positiven S.-G.R.-Gemengen am Boden des Röhrchens sich ein fast ungefärbter, höchstens blaßrosa gefärbter Niederschlag befand, während die darüber stehende Flüssigkeit tiefrot gefärbt war. Der entsprechende Versuch mit dem Extrakt-Kochsalzlösung-Gemenge ergab das umgekehrte Bild: am Boden des Röhrchens befand sich hier ein dicker, tiefroter Niederschlag, während die Flüssigkeit darüber fast entfärbt war. Diese Farbenversuche, die immer gleiche Resultate gaben, wurden zunächst so gedeutet, daß wir in dem Extrakt-Kochsalzlösungsröhrchen den tiefrot gefärbten Niederschlag für einen reinen und deshalb gefärbten Lipoidniederschlag hielten, in den Serumröhrchen den Niederschlag dagegen als ein Gemisch von Globulinen und Lipoiden ansahen. Um nun exakt den Globulingehalt in den S.-G.R.-Flocken festzustellen, wurde versucht, mit den abzentrifugierten und mehrmals mit phys. Kochsalzlösung gewaschenen Flocken eine Eiweißreaktion anzustellen. Um eine größere Quantität dieser Flocken zu erhalten, wurden an verschiedenen Versuchstagen alle positiven S.-G.R.-Gemenge gesammelt, abzentrifugiert und in dem verbleibenden Niederschlag, der mehrmals gewaschen wurde, wurde nunmehr versucht, eine Eiweißreaktion zu erhalten. Die Biuretreaktion, die Xanthoproteinreaktion, die Bleiazetareaktion wurden an einer größeren Anzahl derart gesammelter „Globuline“ versucht, stets mit negativem Erfolg, während die Reaktionen in der über dem Zentrifugat stehenden Flüssigkeit, mit dem sie zur Kontrolle angesetzt wurden, prompt stets den Eiweißnachweis lieferten. Ebenso war der Eiweißnachweis stets positiv in durch Kohlensäure ausgefällten und mehrmals gewaschenen Globulinen.

Um endgültig über die Natur der Flocken bei der positiven S.-G.R. Aufschluß zu erhalten, wurde nun mit 2 Seris, und zwar mit der 90-fachen Menge des ursprünglich angegebenen Serumquantums in den gleichen Verdünnungsverhältnissen und Mischungsverhältnissen wie bei der Originalmethode die S.-G.R. angesetzt. Nach 48 Stunden Aufenthalt im Brutschrank bei 37° wurden die Flocken abzentrifugiert, mit einem Teil der 5mal gewaschenen Flocken die Biuretreaktion versucht, die ein negatives Ergeb-

nis hatte, und mit dem Rest, der feucht gewogen 340 mg ergab, wurde eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ausgeführt, die ergab, daß keinerlei Stickstoff darin enthalten war. Nachdem es durch den stets negativen Ausfall der Eiweißreaktionen schon zweifelhaft geworden war, daß überhaupt Eiweiß in den Flocken enthalten sei, mußte nunmehr endgültig angenommen werden, daß die Flocken bei der S.-G.R. weder Globuline noch Albumine enthalten, sondern nur aus Lipoidstoffen bestehen¹⁾.

Wenn man 1-proz. alkoholische Cholesterinlösung mit Farbstoff versieht und ebenso in heißem Alkohol gelöste Butter und zu der Cholesterinlösung eine Spur einer Kochsalzlösung hinzusetzt, so entsteht ein dicker Niederschlag von Cholesterin. Läßt man absetzen oder zentrifugiert man, so erscheint am Boden des Röhrchens ein schneeweißer Cholesterinniederschlag, und darüber steht die tiefrot gefärbte Flüssigkeit. Ebenso erscheint ein weißlicher Niederschlag der Butter aus der Emulsion in dem erkalteten Alkohol, und darüber steht eine tiefrote Flüssigkeit.

Setzt man dagegen zu in heißem Wasser gelöster Butter Sudanlösung hinzu und läßt langsam erkalten, dann sammelt sich die Butter über dem Wasser, wird fest und hat aus dem Wasser allen Farbstoff mit in die Höhe genommen.

Die Farbenversuche in den positiven S.-G.R.-Röhrchen und in den Extrakt-Kochsalzlösungsmengen lassen sich also so verstehen, daß die bei der S.-G.R. ausgefallenen Lipoid-

1) Aus einer nach Abschluß der Arbeit in der Münch. med. Wochenschrift, 1921, No. 2, erschienenen Veröffentlichung von K. Scheer aus der Frankfurter Kinderklinik ergibt sich, daß eine Aetherextraktion der S.-G.-Flocken den Anteil der Lipide an den letzteren zu 42–73 Proz., im Mittel 63 Proz. feststellen konnte, während aus reinen Globulinflocken nur 5–10 Proz., im Durchschnitt 6,7 Proz. durch Aether extrahierbare Stoffe gewonnen wurden. Scheer sagt, daß die Flocken bei der S.-G.R. „zum größeren Teil aus Lipoiden bestehen“. Die Aetherextraktion dauerte etwa 20 Minuten. Nach unserer Ansicht würde man bis zu 100 Proz. Lipoidstoffe nachweisen können, bei noch längerer Extraktionszeit und unter Verwendung eines Ueberschusses von Aether oder bei Verwendung von Chloroform. Denn es ist bekannt, und hat sich auch bei uns in entsprechenden Versuchen gezeigt, daß Cholesterin, bzw. seine Ester durch Aether nur schwer und langsam auflösbar sind.

flocken — als etwas anderes können wir sie nach unseren Versuchsergebnissen jetzt nicht mehr ansehen — nicht intensiv rot gefärbt sind, weil der Farbstoff an die in der darüber stehenden Flüssigkeit noch sehr reichlich enthaltene Menge von Lipoidstoffen gebunden ist und diese Flüssigkeit dadurch tiefrot gefärbt ist. Bei den Extrakt-Kochsalzlipoidgemengen aber werden durch das Kochsalz alle oder fast alle Lipide gefällt. Nicht die ausgefallenen Lipide sind nun aber an sich gefärbt, sondern sie reißen den im Wasser nicht mehr löslichen und daher jetzt gleichfalls ausfallenden Farbstoff mit sich und sehen deshalb tiefrot gefärbt aus, während die Flüssigkeit entfärbt ist. Kontrollversuche mit Wasser, denen auf 1,5 ccm 0,2 ccm Farblösung zugesetzt war, ergaben gleichfalls nach dem Absetzenlassen einen Farbenniederschlag und eine farblose Flüssigkeit.

Noch eine weitere Versuchsanordnung wurde vorgenommen, um die Beziehungen zwischen S.-G.R. und Wa.R. näher zu erkennen. Wenn die Annahme richtig wäre, daß die S.-G.R. und die Wa.R. durch verschiedene Körper ausgelöst würde, wie dieses von einzelnen Autoren angenommen wurde, dann mußte es möglich sein, in demselben Serum die S.-G.R. und Wa.R. hintereinander anzustellen.

Mit drei Serumproben: 122, 119, 137 wurde die S.-G.R. angestellt, und zwar in der Weise, daß statt der von Sachs angegebenen Serummengende von 0,1 ccm auf 1,0 ccm Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung 0,3 ccm Serum auf 1,0 verdünnt wurde und mit 0,5 ccm 6-fach verdünntem Organextrakt digeriert wurde. Diese Serummengende wurde gewählt, um in 0,5 ccm des Reaktionsgemisches 0,1 Serum zu haben, die Menge, mit der im hiesigen Institut gewöhnlich die Wa.R. angesetzt wurde. Vom Serum 122 wurde auch noch die Reaktion mit 0,2 ccm auf 1,0 ccm Verdünnung und die gebräuchliche Verdünnung zur S.-G.R. 0,1 zu 1,0 angesetzt. Die Röhrchen blieben über Nacht im Brutschrank bei 37°. Am anderen Tage wurden die Flocken abzentrifugiert, und mit 0,5 der überstehenden Flüssigkeit wurde die Wa.R. mit zwei Extrakten angesetzt, wobei diese Flüssigkeit so behandelt wurde, als sei sie reine Serumverdünnung. Es ergab sich, daß die Wa.R. noch positiv ausfiel. In allen Röhrchen trat

eine komplette Hemmung der Hämolyse ein, nur im Röhrchen 122, 0,1 Serum zu 1,0 Verdünnung, war die Hemmung nicht ganz vollständig. Hieraus könnte man leicht eine Bestätigung der Auffassung herauslesen, daß es sich bei beiden Reaktionen um verschiedene Körper handelt, aber es zeigte sich weiterhin, daß man in dem Serum, in dem die S.-G.R. angestellt war, und in dem nach dem Abzentrifugieren noch die Wa.R. positiv wurde, daß in diesem Gemisch durch Zusatz weiterer 0,5 ccm Extraktverdünnung sich die S.-G.R. ein zweites Mal anstellen ließ. Es waren also nach Beendigung der ersten Reaktion in dem Gemisch noch genügend Reagine zu einer zweiten Reaktion vorhanden. Es war sogar möglich, in den Serumgemischen, mit denen zuerst die S.-G.R., dann die Wa.R. positiv geworden war, ein zweites Mal die S.-G.R. anzustellen. Um nicht durch Spuren von Blutkörperchen eine Vortäuschung der S.-G.R. zu erhalten, wurde das Wa.R.-Gemisch scharf zentrifugiert, dann 1,0 ccm mit der Pipette entnommen und damit die S.-G.R. angestellt. Gleichzeitig wurde mit einer weiteren Anzahl von Seren, mit denen die Wa.R. angestellt war, in demselben Gemisch die S.-G.R. angestellt, indem 1,0 ccm des Gemisches mit 0,5 ccm des 6-fach verdünnten Extraktes digeriert wurde. Bei allen stark Wa.R.- und S.-G.R.-positiven Seren erhielten wir auch hier noch eine mittelstarke Ausflockung, bei schwächer reagierenden Seris war die Reaktion öfter nur schwach bis zweifelhaft. Bei weiteren Versuchen wurde angestrebt, im S.-G.R.-Gemenge die Ausflockung möglichst vollständig vor sich gehen zu lassen, ehe in denselben Gemischen die Wa.R. angesetzt wurde. Deshalb wurden die Röhrchen, nachdem sie 24 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten waren, weiterhin 2mal 24 Stunden bei Eisschranktemperatur gehalten (2—10° C) nach den Angaben von Neukirch (31). Erst dann wurde nach Abzentrifugieren der Flocken die Wa.R. angestellt. Zur S.-G.R. war die gebräuchliche Menge von 0,1 ccm Serum auf 1,0 ccm Verdünnung verwandt worden. Auch in dieser Versuchsreihe trat bei den stark positiven Seren noch deutliche Hemmung der Hämolyse auf, während die schwächer positiven nur noch eine Spur Hemmung zeigten.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde zuerst die Wa.R. angestellt, dann in 1,0 ccm des Reaktionsgemenges die S.-G.R., und nachdem diese positiv gewesen war, wiederum in demselben Reaktionsgemenge die Wa.R., welche nunmehr volle Hämolyse ergab.

Weiterhin wurden S.-G.R.-positive und Wa.R.-positive Seren in folgender Weise zur S.-G.R. verwandt:

- 1) Nach dem von Sachs und Georgi angegebenen Modus 0,1 ccm Serum auf 1,0 ccm Verdünnungsflüssigkeit mit 0,5 ccm Extraktverdünnung.
- 2) Zu derselben Serumverdünnung wie bei 1) wurde 1,0 Extraktverdünnung hinzugegeben, also die doppelte Menge Extrakt.
- 3) 0,2 ccm Serum wurde auf 1,0 ccm verdünnt und mit 0,5 Extraktverdünnung digeriert.
- 4) 0,2 ccm Serum wurde auf 1,0 verdünnt und mit 1,0 Extraktverdünnung digeriert.

Nach 24 Stunden Brutschrank bei 37° waren alle Gemische stark positiv, aber bei den Röhrchen mit der doppelten Extraktmenge erschien eine stärkere Flockung gegenüber denen mit einfachen Extraktdosen.

Mit 0,5 ccm dieser Reaktionsgemenge wurde nunmehr die Wa.R. angestellt mit folgendem Ergebnis:

Die ursprünglich mit 0,1 Serum versehenen Reaktionsgemische wiesen nur eine geringe Hemmung der Hämolyse auf, dabei war aber deutlich ersichtlich, daß die Hemmung in den Röhrchen, die bei der S.-G.R. mit doppelter Extraktmenge versehen waren, noch geringer war als in den übrigen. Die mit 0,2 Serum angesetzten Gemenge ergaben eine komplette Hemmung der Hämolyse, soweit ihnen 0,5 Extraktverdünnung zugesetzt war. Die Röhrchen mit der doppelten Extraktmenge zeigten auch hier eine etwas abgeschwächte Hemmung der Hämolyse.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß es offenbar dieselben Körper sind, welche die S.-G.R. und die Wa.R. auslösen, denn es zeigte sich deutlich, daß unter gleichen Bedingungen die Wa.R. schwächer wird, wenn vorher die S.-G.R. stärker war, wenn also mehr Reagine bereits verbraucht sind. Weiterhin ergibt sich, daß bei stark nach der S.-G.R. und Wa.R. positiv reagierenden Seris in denselben Reaktionsgemengen, in denen die Wa.R. angestellt war, noch

eine S.-G.R. durch Hinzufügen von Extraktverdünnung möglich ist, trotz der Anwesenheit des aktiven Meerschweinchen-serums, das allerdings hinreicht, die Reaktion bei schwächer reagierenden Seris zu hemmen. Welcher Art nun die Reagine sind, die beide Reaktionen hervorrufen, ist schwer zu entscheiden. Die Ansicht von Sachs (35), daß die genannten Reaktionen auf einer Dispersitätsveränderung oder größeren Labilität der Globuline im Syphilitikerserum beruhe, scheint uns nach den Untersuchungsergebnissen von Gloor und Klinger (12), sowie neuerdings von Felke (5) und den eigenen Ergebnissen nicht mehr ausreichend zur Erklärung zu sein. Gloor und Klinger vertreten die Auffassung, daß die Wa.R. und die S.-G.R. bedingt seien dadurch, daß die Eiweißteilchen des Luetikerblutes durch besondere chemische Affinitäten zu den Extraktoberflächen ausgezeichnet sind. Sie nehmen an, daß diese Affinität der Eiweißteilchen dadurch zustande kommt, daß bei den durch Spirochäten bedingten Zellveränderungen Abbauprodukte auftreten, welche sich an die kolloidalen Oberflächen der Eiweißteilchen des Blutes binden. Nach unseren Untersuchungen, die ergaben, daß sich in den Flocken der S.-G.R. überhaupt kein Stickstoff, mithin auch kein Eiweiß nachweisen ließ, können wir uns auch dieser Auffassung nicht anschließen. Wir möchten auch annehmen, daß die Abbauprodukte, welche bei den durch Spirochäten bedingten Zellveränderungen auftreten, den Hauptfaktor beim Zustandekommen der Wa.R. und S.-G.-Reaktionen bilden, aber die Rolle, welche die Eiweißteilchen des Blutes bei den Reaktionsvorgängen spielen, müssen wir uns in anderer Weise vorstellen. Wir können uns vorstellen, daß die genannten Abbauprodukte im Luetikerblut an die Eiweißteilchen locker angelagert, nicht aber etwa durch chemische Bindung fest verankert sind. Physikalische Momente, Oberflächenspannung insbesondere, mögen die Ursache dafür sein. Die Tatsache, daß diese Abbauprodukte oder, kurz gesagt, Reagine beim Ausfällen der Globuline durch Kohlensäure zum Teil mitgerissen werden, könnte für diese Auffassung sprechen, während in den S.-G.-Flocken auch Eiweiß nachweisbar sein mußte, wenn eine stärkere chemische Bindung etwa zwischen den Reaginen und den Globulinen bestände. Man könnte

sich schließlich auch vorstellen, daß die Reagine ebenso wie die Eiweißkörper des Blutes sich in kolloidaler Lösung befänden, ohne mit ihnen irgendwie verbunden zu sein. Es wäre auch so verständlich, daß bei der Ausfällung der Globuline ein Teil der Reagine mitausfällt, entweder dadurch, daß sie einfach mechanisch mitgerissen werden, oder infolge Aenderung der physikalischen Bedingungen innerhalb der kolloidalen Lösung gleichfalls ausfallen.

Es erhebt sich nun weiter die Frage, ob die Flocken bei der S.-G.R. nur aus Extraktlipoiden bestehen oder aus Lipoidbestandteilen des Serums und Extraktes. Man könnte sich vorstellen, daß die Abbauprodukte der Zellen infolge der Einwirkung der Spirochäten, die Reagine also, stickstoffhaltige Körper wären. Dann müßte man annehmen, daß sie beim Zusammenwirken des Serums mit Extraktlipoiden in kochsalzhaltigen Medien die Wirkung der Serumbestandteile als Schutzkolloide für die Extraktlipide aufheben würden. Eine Wirkung der Serumbestandteile als Schutzkolloid hat Meinicke, wie bereits oben erwähnt, nachgewiesen durch Flockungen, die er erhielt, wenn er seine Reaktion mit Serumverdünnungen 1:320 und 1:640 ansetzte, während dasselbe Serum in schwacher Verdünnung überhaupt keine oder nur schwache Ausflockungen bei der Reaktion ergab. Es erscheint uns aber nicht sehr einleuchtend, daß stickstoffhaltige Eiweißabbauprodukte die kolloidale Schutzwirkung der Eiweißstoffe des Blutes herabsetzen sollten. Zwangloser erscheint uns die Annahme, daß die S.-G.-Flocken aus Lipoidbestandteilen des Serums sowohl wie des Extraktes bestehen. Unsere Versuche haben ergeben, daß die Ausflockungen beim wiederholten Anstellen der S.-G.R. mit derselben Serummenge, aber unter Hinzufügen neuer Extraktbestandteile schwächer waren als beim ersten Male. Wenn man annimmt, daß die Reagine nicht mit in die Flocken übergehen, sondern nur die Wirkung des Serums als Schutzkolloid beeinträchtigen, so läßt sich diese Tatsache nicht verstehen, denn die Wirkung als Schutzkolloid müßte doch bei der Verdünnung des Serums an und für sich abnehmen und so die 2. und 3. Reaktion stärkere Flocken aufweisen, wie beim ersten Male. Sehr verständlich ist es aber, daß die Flockung bei der 2. und 3. Reaktion schwächer

ist, wenn man annimmt, daß die Reagine des Serums mit in die Flocken übergehen, also diese aus einer Serum- und einer Extraktkomponente bestehen. Wie die Flockung nun zustande kommt, ob infolge einer chemischen Affinität der Serumlipoiden zu den Extraktlipoiden, oder ob hier nur rein physikalische Momente, Änderungen in der Oberflächenspannung bei den kolloiden Lösungen von Einfluß sind oder beide Momente mitspielen, das wagen wir nicht zu entscheiden.

II.

Die S.-G.R. wurde an den im Untersuchungsamt von den benachbarten Krankenanstalten und praktischen Aerzten aus der Umgebung eingehenden Seren ausgeführt. Unser Untersuchungsmaterial setzte sich aus Seren zusammen, die von Patienten aus allen Stadien der Lues stammten, behandelten und unbehandelten, aus Seren von Infektionskrankheiten, wie Tuberkulose, Typhus, Dysenterie, Malaria, sowie von Nerven- und Geisteskranken. Wenn es als Vorteil angesehen werden kann, daß Sera aus allen Stadien der Lues und den verschiedensten Infektionskrankheiten sowie von Gesunden (Ammenuntersuchungen) zur Beurteilung der S.-G.R. herangezogen werden konnten, so stehen dem andererseits auch wieder Nachteile entgegen. Die eingesandten Sera können nicht so frisch zur Untersuchung kommen wie solche, welche aus einer Klinik stammen, und es gelang im allgemeinen nicht, die S.-G.R. innerhalb der ersten drei Tage nach der Entnahme des Blutes anzustellen, wie das von einigen Autoren verlangt wird. Andererseits ist es aber auch von praktischer Bedeutung, zu erproben, wie lange ohne Schaden für die Spezifität einerseits und für die Intensität der Reaktion andererseits nach der Entnahme die S.-G.R. noch anstellbar ist. Die meisten Sera gelangten bei uns etwa 6—8 Tage nach der Entnahme zur Untersuchung. Vielleicht ist damit zu erklären, daß wir bei einer verhältnismäßig größeren Anzahl von Seren in der Alkoholkontrolle Flockung bekamen, und daß bei den Wa.R. eine größere Zahl der Sera Eigenhemmung aufwies. Aber mit diesem Nachteil müssen mehr oder weniger alle Untersuchungsämter rechnen, welche auf Sammeluntersuchungen angewiesen sind.

27*

Die S.-G.R. wurde bei uns neben der Wa.R. angestellt, aber die Resultate derselben, ebenso wie die klinischen Diagnosen, wurden erst nachträglich eingeholt, um eine ungewollte Beeinflussung zu verhindern.

Wir stellten die S.-G.R. zunächst nach der alten Methode an, bei der die Röhrchen 2 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten wurden und nach Stehen von weiteren 24 Stunden bei Zimmertemperatur beurteilt wurden. Wir befolgten dabei genau die von Sachs und Georgi gegebene Vorschrift und benutzten zur Ablesung das Agglutinoskop von Kuhn und Woite. Zunächst stand uns nur ein nach der Vorschrift von Sachs und Georgi von uns hergestellter und cholesterinierter Extrakt aus Rinderherz zur Verfügung, der später bei vielen Vergleichsversuchen mit den uns von Herrn Prof. Sachs lebenswürdigerweise übersandten Extraktproben 31 und 27 im wesentlichen übereinstimmte. Diese Versuche sind in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt. Später stellten wir die Versuche nach der Brutschrankmethode an. Wir untersuchten stets gleichzeitig mit drei Extrakten und einer Alkoholkontrolle. Die Methodik war die von Sachs und Georgi angegebene und besonders in der Arbeit im Heft 10 der Arbeiten aus dem Institut für experimentelle Therapie und dem Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. ausführlich dargestellte. 0,1 ccm Serum wird mit möglichst frischer, steriler, unmittelbar vor dem Gebrauch filtrierter, 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 1,0 verdünnt und dazu 0,5 der 6-fachen Extraktverdünnung mit physikalischer Kochsalzlösung hinzugegeben. Die Extraktverdünnung wurde derart hergestellt, daß zunächst zu der abgemessenen Menge Extrakt die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung schnell hinzugegeben wurde. Nach kurzem Umschütteln wurde sofort die 4-fache Menge Kochsalzlösung weiter schnell hinzugegeben. Die so bereitete Extraktverdünnung wurde sofort zum Gebrauch verwendet. Zur Kontrolle auf eventuelle Eigenflockung des Extraktes wurde ein Kontrollröhrchen mit 1,0 physiologischer Kochsalzlösung und 0,5 ccm der Extraktverdünnung den Versuchen beigegeben. Nach Zugabe des Extraktes zu den Serumverdünnungen kamen die Röhrchen nach kurzem Umschütteln etwa 24 Stunden in den Brutschrank. Danach wurde das Resultat mit dem Agglutinoskop abgelesen. Bei stark positivem Serum war es uns fast immer möglich, den positiven Ausfall der Reaktion schon mit bloßem Auge zu konstatieren. Nicht so bequem, aber ebenso sicher wie mit dem Agglutinoskop ist die Beurteilung der Reaktion mit einer guten Lupe möglich. Wir machten die Erfahrung, daß in vielen Fällen die Beurteilung der Stärke der Reaktion besser möglich war, wenn man die Röhrchen im Agglutinoskop ansieht, ohne sie vorher aufzuschütteln.

Wie schon Sachs betont, ist Wert darauf zu legen, daß die verwandte Kochsalzlösung möglichst frisch bereitet ist, und daß sie vor Gebrauch filtriert wird. Wir erhielten an einem Versuchstage einmal in allen Serumgemengen, sowie auch in den Alkoholkontrollen Flockungen, die wahrscheinlich einer nicht mehr sterilen, älteren Kochsalzlösung zur Last zu

legen sind. Ebenso ist unserer Erfahrung nach darauf zu achten, daß die Reagenzröhrchen im Trockenschrank gut sterilisiert sind, um hemmende Einflüsse von Säure oder Alkaliresten sowie anderen Stoffen, die zufällig in den Röhrchen sich befinden können, auszuschalten.

Das Patientenserum wurde eine halbe Stunde bei 55—66° inaktiviert, ehe es verwandt wurde. Zahlreiche hämolytische Sera, ebenso auch eine Anzahl chylöser wurden verwandt, und sofern sie klar waren, erhielten wir nie einen Unterschied gegenüber den anderen. Ebenso wurde die Reaktion in einer Reihe von Fällen mit der Hälfte der von Sachs und Georgi angegebenen Dosen angestellt. Dabei wurde aber dasselbe Verhältnis der Reaktionsbestandteile gewahrt wie in der Originalmethode. Wir bemerkten infolgedessen auch niemals eine Abschwächung der Reaktion bei halben Dosen. Als Vergleichsreaktion wurde die Wa.R. ausgeführt, welche bei uns gleichfalls mit mehreren Extrakten angesetzt wurde. Wenn wir auch im folgenden unsere Ergebnisse bei der S.-G.R. mit denen der Wa.R. vergleichen, so sind wir uns doch dabei im klaren, daß die Wa.R. nur ein unsicherer Wertmesser ist, und wir legen mit vielen anderen Autoren den größten Wert darauf, die Ergebnisse der S.-G.R. mit den Befunden des Klinikers zu vergleichen.

Im ganzen wurden auf diese Weise 374 Sera untersucht. Es zeigt sich, daß die Ergebnisse mit denen bei der Wa.R. in 88,77 Proz. übereinstimmen, in 11,23 Proz. divergieren. Am besten stimmen die Reaktionen bei Fällen von Tabes überein, ein Umstand, der sich jedenfalls aus der geringen Zahl der Untersuchungen — nur 9 — erklärt, bei denen keine Divergenz vorkam. Eine gute Uebereinstimmung zeigen auch die Reaktionen bei Fällen von Lues II. Nur 9,82 Proz. Divergenz bei 112 Untersuchungen! Ebenso zeigt die Rubrik Varia eine gute Uebereinstimmung. Hier handelt es sich einmal um Fälle, in denen eine klinische Diagnose nicht in Erfahrung gebracht werden konnte, dann um die Sera bei Infektionskrankheiten, Tuberkulose, Typhus, Dysenterie, Scharlach, Malaria, Grippe, Encephalitis lethargica, Ulcera mollia, Neuritiden, Tumoren, Syphiliphoben, Nervenkrankheiten, nichtluetische Geisteskrankheiten, Ammenuntersuchungen, Gicht, Iridocyclitis, Fälle von Apoplexie und arteriosklerotischen Veränderungen.

Nicht ganz so gut stimmen die Reaktionen überein bei der Lues latens und Lues III. — Wie sich bei Besprechung der divergierenden Fälle zeigen wird, war die S.-G.R. öfters stärker bei Fällen, welche kurz nach einer spezifischen Behand-

lung untersucht wurden. Es wäre wünschenswert, auch unser Material nach den Gesichtspunkten: behandelte und unbehandelte Lues zu ordnen. Aber um hier exakt zu trennen, fehlen uns in einer Anzahl von Fällen die genauen klinischen Angaben, und man könnte daher leicht zu falschen Schlüssen verleitet werden. Es folgt nun die Tabelle mit der Uebersicht der nach Lues I, II, III, Lues latens, Lues hereditaria, Tabes, Paralyse, Varia geordneten Untersuchungen, aus der die Zahl der übereinstimmend positiven, sowie die Anzahl der nur Wa.R.-positiven oder nur S.-G.R.-positiven Sera bei den einzelnen Kategorien ersichtlich wird. Zweifelhafte Reaktionen wurden stets den negativen zugerechnet, da praktisch aus solchen Reaktionen keinerlei Schlüsse auf eine vorhandene Lues gezogen werden dürfen.

Gesamtzahl	++		--		+-		Ueberein- stimmend in Proz.	Divergenz in Proz.
	Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.	Wa.R.	S.-G.R.		
Lues I	34	7	23	1	3		88,24	11,76
„ II	112	38	63	2	9		90,18	9,82
„ III	22	8	11	1	2		85,72	14,28
„ latens	71	16	46	2	7		87,33	12,76
„ hereditaria	10	3	6	0	1		90,00	10,00
Tabes	9	3	6	0	0		100,00	0
Paralyse	8	4	2	1	1		75,00	25,00
Varia	108	16	81	5	6		89,82	10,18
Insgesamt	374	95	238	12	29		88,77	11,23

Wir kommen zur Besprechung der divergierenden Fälle.

Lues I: Nur Wa.R. positiv bei negativer S.-G.R. war ein Fall.

Es handelt sich um eine vor 7 Wochen erfolgteluetische Infektion.

S.-G.R. positiv bei negativem Wassermann waren 3 Fälle.

1) 110. Infektion vor 6 Wochen. Die S.-G.R. war mit 3 Extrakten positiv, mit einem Extrakt negativ.

2) 146. Luetische Infektion vor 2 $\frac{1}{2}$ Monaten. Vor 5 Wochen war die Wa.R. positiv, seither war der Fall spezifisch behandelt worden. Die S.-G.R. war nach 24 Stunden schwach positiv. Das Resultat verstärkte sich aber nach weiteren 24 Stunden.

3) 25. Die klinische Diagnose lautete: Gonorrhoe und Luesverdacht. Die S.-G.R. war mit einem Extrakt zweifelhaft, mit den übrigen positiv.

Es handelt sich also bei den divergierenden Fällen immer um klinisch sichere Lues bis auf Fall 25, in dem nur eine

Gonorrhoe festgestellt und der Verdacht auf Lues ausgesprochen ist. In einem Falle war die Wa.R. also früher positiv, in den anderen die S.-G.R. — Während bei einem dritten Falle die Wa.R. schon infolge der Behandlung wieder negativ geworden war, war die S.-G.R. noch positiv.

Lues II: Nur Wa.R. positiv waren:

1) 164. Die S.-G.R. war nach 24 Stunden Brutschrank fraglich, ebenso nach weiteren 24 Stunden Zimmertemperatur.

2) 50. Es war eine spezifische Behandlung vorausgegangen.

Nur S.-G.R. positiv.

1) 482. Luetische Infektion Juni 1917. Offenbar behandelt.

2) 107. Es handelt sich um eine Frau, deren erstes Kind tot geboren wurde, und deren zweites Kind luetische Hauterscheinungen aufwies.

3) 108. Wiederum eine Frau, deren erstes Kind eine Totgeburt war, und deren zweites Kind luetische Hauterscheinungen aufwies. 2 Extrakte gaben dabei eine stark positive Reaktion, 2 weitere negative bis zweifelhafte Reaktionen.

4) 109. Lues seit 1915. Offenbar ist Behandlung vorausgegangen.

5) 75. Infektion vor einem Jahr. Es ist eine Behandlung erfolgt. Es ist zweifelhaft, ob spezifische Symptome vorhanden sind.

6) 171. Infektion vor $\frac{3}{4}$ Jahren. Erste spezifische Kur soeben beendet. Nach 24 Stunden Brutschrank ist die Reaktion zweifelhaft, nach weiteren 5 Stunden Eisschrank positiv.

7) X. Spezifische Kur beendet. Die Wa.R. zeigt Eigenhemmung.

8) Y. Lues ohne nähere Angabe. S.-G.R. mit allen Extrakten stark positiv.

9) 405. Lues, offenbar nach der Behandlung.

Lues III: Nur Wa.R. positiv.

1) 423. Lues III. Infektion 1918 (423).

Nur S.-G.R. positiv.

1) 521. Luetische Infektion vor 8 Jahren. Ein Extrakt ergab zweifelhafte, die übrigen positive Reaktion.

2) 161. Lues III. Nervensymptome, spezifische Kur vor einigen Wochen beendet.

Bei den divergenten Fällen von Lues II und III handelt es sich stets um klinisch sichere Lues, die teils vor, teils nach der Behandlung sich befand.

Lues latens.

Nur Wa.R. positiv.

1) 127. Lues fraglich. Infektion vor einem Jahr.

2) 163. Infektion vor 2 Jahren. Lues latens.

Nur S.-G.R. positiv.

- 1) 146. Lues? Infektion vor Jahren.
- 2) 174. Mit allen Extrakten stark positiv. Es handelt sich um den Vater eines hereditär luetischen Kindes.
- 3) 128. Es handelt sich um eine Frau, deren Ehemann seit 8 Jahren an Paralyse leidet. Die Wa.R. zeigte Eigenhemmung.
- 4) 184. Vor 2 Monaten bestanden spezifische Symptome. Seither behandelt. Die Wa.R. zeigte Eigenhemmung.
- 5) 15. Nephritis und Luesverdacht. Alle Extrakte reagierten positiv.
- 6) 16. Die klinische Diagnose lautet: Lues?
- 7) 165. Klinische Symptome? Im September 1919 Salvarsanbehandlung. Es handelt sich um eine Schizophrenie.

Bei den divergenten Fällen war die Wa.R. allein nur in klinisch sicheren Fällen positiv, bis auf Fall 127, in denen die augenblicklichen klinischen Erscheinungen fraglich, aber eine Luesinfektion vor 1 Jahr gesichert war. Die S.-G.R. war in 3 klinisch sicheren Fällen positiv. In 2 Fällen bestand sehr wahrscheinlich Lues. Bei 2 weiteren Fällen ist es fraglich, ob die S.-G.R. ein spezifisches Resultat ergeben hat.

Lues hereditaria.

Die S.-G.R. war in einem Falle allein positiv. Es handelt sich um ein 15-jähriges Kind, das von Jugend an krank ist.

Paralyse.

Die Wa.R. war in einem Falle allein positiv. Die Zeit der Infektion ist unbestimmt, aber die klinische Diagnose: Paralyse gesichert. Ebenso handelt es sich bei dem nur S.-G.R-positiven Fall um eine klinisch gesicherte Paralyse.

Varia.

Nur Wa.R. positiv.

- 1) 520. Wa.R. ergab mit einem Extrakt Hemmung. Die S.-G.R. war mit allen Extrakten negativ.
- 2) 480. Keine nähere klinische Diagnose zu erfahren.
- 3) 1550. Klinisch Encephalitis lethargica. Die S.-G.R. vollkommen negativ.
- 4) und 5) 160 und 186. Diagnose? S.-G.R. war in beiden Fällen zweifelhaft.

Nur S.-G.R. positiv.

- 1) Z. Nähere Angaben fehlen.

- 2) 481. Wa.R. negativ, aber deutliche Hemmung erkennbar. S.-G.R. mit 2 Extrakten fraglich und negativ.
- 3) 148. Ulcus molle, Lues fraglich.
- 4) 80. Wa.R. zeigt Eigenhemmung.
- 5) 13. Hemiplegie. Eine frühere Gonorrhoe wird zugegeben.
- 6) 30. Keine näheren Angaben.

Bei den divergenten Fällen hat die Wa.R. einmal möglicherweise unspezifisch reagiert. Die S.-G.R. vielleicht ebenfalls einmal. Es ist schwer, zu entscheiden, ob die übrigen divergenten Fälle auf unspezifischen Reaktionen beruhen, weil dafür die näheren klinischen Angaben fehlen.

Wenn wir unser Ergebnis zusammenfassend beurteilen, müssen wir feststellen, daß die S.-G.R. uns im allgemeinen spezifische Resultate lieferte, daß sie im allgemeinen in allen Stadien der Lues prozentual mehr positive Resultate ergab, wie die Wa.R., besonders bei behandelten Fällen. Es kann sich allerdings erst im Laufe der Zeit ergeben, ob die positiven Reaktionen bei behandelten Fällen als für Lues charakteristisch aufzufassen sind, wie das von einigen Autoren bereits jetzt angenommen wird, oder ob sich hier ein schwerer Nachteil der S.-G.R. offenbart.

Ein weiterer Punkt wäre bei dem Vergleich zwischen beiden Reaktionen noch zu berücksichtigen.

Bei der Wa.R. hatten wir im ganzen 5,35 Proz. Eigenhemmung. Bei der S.-G.R. wurde in 8,28 Proz. der Fälle die Alkoholkontrolle positiv. Diese hohe Zahl der positiven Kontrollen erklärt sich einmal aus dem verhältnismäßig langen Aufbewahren der Sera, wie auch daraus, daß wir an einem Versuchstage, wie schon erwähnt, nur positive Kontrollen erhalten hatten. Daß das Lagern der Sera von Einfluß auf die S.-G.R. ist, wurde in einer besonderen Versuchsreihe erwiesen. Eine größere Anzahl von Wa.R. und S.-G.R. positiven und negativen Seren wurde 14 Tage, 3 Wochen und 4 Wochen nach dem ersten Ansetzen der Reaktion wiederum untersucht. Dabei konnten wir kaum eine Abnahme der Intensität der positiven Reaktion beobachten, sondern wir sahen sehr oft, daß bei diesen Wiederholungsuntersuchungen vorher negative Sera positive Resultate ergaben. Derselbe Befund konnte auch bei Wa.R. gemacht werden.

Liquoruntersuchungen.

Lumbalfüssigkeiten standen uns nur in beschränkter Anzahl zur Verfügung. Die meisten stammten aus der Landesheilanstalt zu Marburg, und ich möchte auch an diesser Stelle dem Oberarzte der Anstalt, Herrn Dr. Giese, für freundliche Ueberlassung der klinischen Diagnosen meinen verbindlichsten Dank aussprechen. Insgesamt wurden 15 Lumbalfüssigkeiten untersucht. 8 stammten von Paralytikern, davon reagierten 6 nach beiden Reaktionen positiv, bei einer versagte die Wa.R., bei einer die S.-G.R. — 7 Liquores waren negativ, darunter befanden sich Fälle von Schizophrenie (2), Scharlach mit meningitischen Erscheinungen (1), Psychopathie (1), Tabes dorsalis (1), Encephalitis lethargica (1); die Liquores wurden nach der von Sachs-Georgi angegebenen Methode untersucht. Nach 5—10 Minuten langem Inaktivieren wurden 0,5, 0,25, 0,15 und 0,1 ccm unverdünnt mit 0,5 ccm 6-fach verdünntem Extrakt versetzt. Wenn wir die Punktate ohne vorheriges Inaktivieren untersuchten, wie sie zur Wa.R. verwandt wurden, so konnten wir keine wesentlich anderen Resultate erzielen. Auffällig war uns die verhältnismäßig hohe Zahl der nicht einwandfreien Alkoholkontrollen, welche die Beurteilung der Reaktion sehr erschwerten. Wir hatten bei der geringen Anzahl unserer Untersuchungen einmal eine positive Alkoholkontrolle, und 3mal wurde die Kontrolle als zweifelhaft bezeichnet.

Neuerdings gibt F. K. Georgi (10) an, daß bei Steigerung der Untersuchungsmenge auf das Dreifache die Resultate mit der Ausflockungsreaktion besser werden, als mit der Wa.R.

Wie von einer großen Anzahl von Autoren betont wird, bildet eine der hauptsächlichsten Fragen bei der S.-G.R. wie bei der Wa.R. die Frage der Extraktbereitung. Nach den eingehenden Untersuchungen von Sachs und vieler anderer Autoren wird heute wohl angenommen, daß ein optimales Gemisch von verschiedenen Lipoiden das Wesentliche ist, was den Extrakt als „Antigen“ als geeignet erscheinen läßt. Wir selbst stellten uns zunächst nach der Vorschrift von Sachs und Georgi für unsere Versuche Rinderherzextrakt her, welcher nach geeigneter Cholesterinierung sich auch als brauch-

bar erwies. Da in dem Lipoidgehalt der Extrakte das Wesentliche erblickt wurde, glaubten wir, annehmen zu dürfen, in Extrakten aus Gehirn, welches doch bekanntermaßen sehr reichlich Lipoide enthält, brauchbare Extrakte zu finden. Es wurden also aus Rinderhirn Alkoholextrakte hergestellt nach derselben Vorschrift, die Sachs für die Herstellung von Extrakt aus Rinderherz gibt. Die dergestalt hergestellten Extrakte wurden im Verhältnis 1:1, 1:2 und 1:3 mit Alkohol verdünnt. Und ebenso wurde den einzelnen Verdünnungen noch ein Cholesterinzusatz in steigender Menge geben.

Auch nach der Vorschrift für Extraktbereitung von Meinicke (24c) wurden aus Rinderhirn Extrakte hergestellt. Ebenso wurde ein Extrakt daraus nach Art von Lessers (20a) Aetherextrakt bereitet.

Alle Versuche jedoch, die wir mit Extrakten aus Rinderhirn anstellten, hatten kein brauchbares Ergebnis. Die Rinderhirnextrakte erwiesen sich in jeder Form und Verdünnung als ungeeignet dadurch, daß sie einmal bei stark positiven Seren versagten, und auf der anderen Seite bei negativen Seren Flockungen ergaben.

Vor der Verwendung der Extrakte wurde die Extraktvorprobe, welche Meinicke (24c) zur Prüfung der Brauchbarkeit eines Extraktes für seine Reaktion und für die Wa.R. angibt, auch zur Vorprüfung von Extrakten für die S.-G.R. angewendet. Wir verfügten nur über wenig Material, aber bei den wenigen Vorversuchen, die wir anstellten, ergab sich, daß die Meinickevorprobe auch zur Extraktbeurteilung für die S.-G.-R. brauchbar zu sein scheint. Wir stellten den Versuch zunächst mit den Extrakten an, die sich bei uns in vielen Untersuchungen bereits bewährt hatten und erhielten dabei Bilder, die den Angaben Meinickes in der Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 27, Heft 6, p. 513, entsprechen. Wir verfahren dabei folgendermaßen:

Von physiologischer Kochsalzlösung wurden Verdünnungen 1:2, 1:4 und 1:8 bereit. In 5 Röhrchen kommen 0,5 ccm des zu untersuchenden Extraktes. In Röhrchen I werden dazu 0,5 ccm Aqua dest. hinzugesetzt. In Röhrchen II 0,5 ccm der Kochsalzverdünnung 1:8, in III 0,5 ccm der Verdünnung 1:4, in IV 0,5 ccm der Verdünnung 1:2, und in V 0,5 ccm der physiologischen Kochsalzlösung. Nach dem schnell ausgeführten Pipettieren werden alle Röhrchen gut geschüttelt und bleiben 1—2 Stunden bei

Zimmertemperatur stehen. Bei einem brauchbaren Extrakt soll das Wasserröhrchen leicht getrübt erscheinen und einen hellgrauen Farbenton haben. Das Röhrchen mit der Verdünnung 1:8 ist wesentlich stärker getrübt und hat einen ins Gelbliche spielenden Farbenton. Die drei anderen Röhrchen sollen dichte Trübung aufweisen.

Wir konnten im allgemeinen schon sofort nach dem Mischen des Extraktes in dem Röhrchen mit der Kochsalzlösung dieses charakteristische Gepräge wahrnehmen, allerdings deutlicher nach einigen Stunden. Wir versuchten auch mit unseren verschiedenen Rinderhirnextrakten die Meinickenvorprobe und erhielten dabei gleichfalls mit allen Modifikationen ein anderes Aussehen der Versuchsröhrchen, als bei den brauchbaren Extrakten. Das Röhrchen mit Aqua dest. wies gewöhnlich eine viel hellere Trübung auf, als bei den brauchbaren Extrakten, und alle Röhrchen der Kochsalzverdünnung hatten denselben weißlichen, nicht ins Gelbe spielenden Farbenton, der sonst auftrat. Die Untersuchungen im Sachs-Georgi-versuch ergaben dann auch ein unspezifisches Verhalten der Extrakte, wie schon erwähnt. Die Meinickemethode der Extraktprüfung verdient also auch nach unseren geringen Erfahrungen bei der Neuerprobung von Extrakten für die S.-G.R. zur vorläufigen Orientierung über die Brauchbarkeit angewandt zu werden.

In einer Untersuchungsreihe wurde auch die Methode der fraktionierten Extraktverdünnung, die Sachs empfiehlt, zur Verfeinerung der Brutschrankmethode angewandt. Es wurde so verfahren, daß die S.-G.R. außer mit mehreren nach der gewöhnlichen Methode verdünnten Extrakten auch mit einem Extrakt angesetzt wurde, der nach dem Vorschlag von Sachs erst mit dem gleichen, dann nach etwa 10 Minuten mit dem 4-fachen Volumen einer physiologischen Kochsalzlösung versetzt war. Es zeigte sich auch bei uns, daß auf diese Weise eine Verfeinerung der Methodik möglich ist. Aber es mußte auch konstatiert werden, daß nicht alle Sera in gleicher Weise mit dem fraktioniert verdünnten Extrakt stärker reagieren. 224 Sera wurden auf diese Weise untersucht. Dabei waren mit beiden Extraktverdünnungen 62 Fälle positiv, 147 negativ, einmal war die Reaktion mit gewöhnlich verdünntem Extrakt allein positiv, 3mal die mit fraktioniert verdünntem, 2mal

ergab die Reaktion mit gewöhnlicher Extraktverdünnung fragliche Reaktion, 9mal die mit fraktioniert verdünntem. Von den gemeinsamen positiven Fällen reagierte der gewöhnlich verdünnte Extrakt 9mal, der fraktioniert verdünnte 37mal stärker. Beim Vergleich der mit dem fraktioniert verdünnten Extrakt positiven Reaktionen mit den Wa.-R. ergab sich, daß einmal die Wa.R. positiv, 2mal die Wa.R. negativ war.

In Heft 10 der Arbeiten aus dem Institut für experimentelle Therapie und dem Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. berichtet P. Neukirch (31) über den verstärkenden Einfluß von Eisschrantemperatur auf den Ausfall der S.-G.R. nach vorherigem Aufenthalt der Versuchsröhrchen im Brutschrank bei 37°. Wir wandten auch diese Methode zur Verfeinerung der Ergebnisse der Brutschrankmethode an, und zwar insgesamt in 137 Fällen. 32mal hatten wir sowohl nach 24 Stunden Brutschrank wie nach 5 Stunden Aufbewahren der Röhrchen bei Eisschrantemperatur und weiter nach 24 Stunden Aufbewahren bei Eisschrantemperatur gemeinsam positive Ergebnisse. 96mal gemeinsam negative Ergebnisse, 4mal erhielten wir nach 5 Stunden Stehen der Röhrchen bei Eisschrantemperatur zweifelhafte Ergebnisse in vorher negativen Reaktionen, und 3mal steigerten sich diese zweifelhaften Ergebnisse nach 24 Stunden Eisschrantemperatur zu positiven. Mit der Wa.R. verglichen, ergab sich, daß die Wa.R. bei den in Frage kommenden Seris nur einmal positiv war. In einem Falle handelte es sich zweifellos um eine unspezifische Reaktion bei der Eisschrankmethode. Die klinische Diagnose zu diesem Falle lautete: Typhus oder Dysenterie. Bei 5 Fällen ergab die Eisschrankmethode positive Resultate in vorher negativen Reaktionsgemengen. Auch hier handelt es sich in 2 Fällen um unspezifische Reaktionen bei Typhus und Dysenterie, in einem Falle war klinisch eine Lues festgestellt, die aber eine spezifische Behandlung erhalten hatte.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend können wir feststellen, daß sowohl die Methode der fraktionierten Extraktverdünnung, wie die Eisschrankmethode dazu dienen können, die S.-G.R. zu verfeinern. Allerdings wächst damit die Gefahr der unspezifischen Reak-

tionen. Einen wesentlichen Unterschied zwischen der Ablesung nach 5 Stunden und 24 Stunden Aufbewahrung bei Eisschranktemperatur konnten wir nicht feststellen. Sehr oft sahen wir nach 24 Stunden Brutschrank Reaktionen mit dem fraktioniert verdünnten Extrakt schon positiv, die mit dem einfach verdünnten Extrakt erst nach Aufbewahrung bei Eisschranktemperatur positiv wurden. Diese Reaktionen möchten wir nach unseren Erfahrungen für spezifisch halten und daher empfehlen, neben den nach der ursprünglichen Methode verdünnten Extrakten auch stets einen fraktioniert verdünnten Extrakt anzuwenden und neben der Ablesung nach 24 Stunden Brutschrank eine zweite Ablesung vorzunehmen nach Aufbewahrung der Reaktionsgemenge bei $2-10^{\circ}\text{C}$.

Am Schlusse möchte ich nicht verfehlen, dem Direktor des Hygienischen Institutes, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Bophoff, für die weitgehende Förderung meiner Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Baumgärtel, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 15, 26, 36.
- 2) Blumenthal, Med. Klinik, 1919, No. 31.
- 3) Eicke, Med. Klinik, 1919, p. 1314.
- 4) — und Rose, ebenda, 1920, No. 36.
- 5) Felke, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 45.
- 6) — und Wetzels, ebenda, 1919, p. 1347.
- 7) Fraenkel, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 1047; Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 37.
- 8) Friedemann, Ulrich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67. 1910.
- 9) Georgi, W., Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 27, 1918; Biochem. Zeitschr., Bd. 93, 1919; Dermatolog. Wochenschr., Bd. 68, 1919.
- 10) — F., Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 46.
- 11) Gaethgens, Münch. med. Wochenschr., 1919, No. 33.
- 12) Gloor und Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 22, Heft 5.
- 13) Hauck, Münch. med. Wochenschr., 1919, No. 49; 1920, No. 13.
- 14) Hertz, Inaug.-Diss. Bonn, 1919.
- 15) Hinzelmann, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 14.
- 16) Hübschmann, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 9.
- 17) Kafka, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 50.
- 18) Keining, Inaug.-Diss. Marburg, 1920; Dermatol. Zeitschr., Bd. 30.
- 19) Konitzer, Med. Klinik, 1919, No. 14.
- 20) Lesser, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 21; 1919, No. 10; Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 32.

- 21) Lipp, Med. Klinik, 1918, No. 50; Münch. med. Wochenschr., 1918, p. 1200.
- 22) Loens, Deutsche med. Wochenschr., 1913, No. 21.
- 23) Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 11, 43; 1920, No. 33, 43.
- 24) Meinicke, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 49; 1919, No. 19; 1919, p. 932; Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 7; 1919, p. 660; 1920, p. 13; 1920, No. 37; Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 27, Heft 6, p. 513; Bd. 28, 1919, p. 2; Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 4, p. 83.
- 25) Merzweiler, Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 46.
- 26) Messerschmidt, Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 6.
- 27) Meyer, Med. Klinik, 1919, No. 11.
- 28) Meyeringh, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 30, 1920, Heft 1.
- 29) Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 29, Heft 1 u. 6; Med. Klinik, 1918, No. 41.
- 30) — und Weichbrodt, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 46.
- 31) Neukirch, Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie Frankfurt a. M., Heft 10; Med. Klinik, 1920, p. 69; Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 29.
- 32) Papamarku, Med. Klinik, 1920, No. 36.
- 33) Pesch, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 43.
- 34) Plaut, Zeitschr. f. d. ges. Neurologie, 1919, No. 52.
- 35) Raabe, Berl. klin. Wochenschr., 1919, p. 1012.
- 36) Reich, Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 7.
- 37) Sachs, Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 3; Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exp. Therapie, Bd. 26, 1917, Heft 5; Berl. klin. Wochenschrift, 1916, No. 52; Kolloid. Zeitschr., Bd. 24, Heft 4.
- 38) — und Georgi, Med. Klinik, 1918, No. 33; Münch. med. Wochenschrift, 1919, No. 16; 1920, No. 3; Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie Frankfurt a. M., Heft 6 u. 10.
- 39) — und Rondoni, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 44.
- 40) Scheer, Münch. med. Wochenschr., 1919, No. 32; Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exp. Therapie, Bd. 30, Heft 2.
- 41) Schönfeld, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 14.
- 42) Somoggi, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 43.
- 43) Schröder, Med. Klinik, 1919, No. 21.
- 44) Stilling, Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie Frankfurt a. M., Heft 10, p. 32 u. 70; Med. Klinik, 1920, No. 2.
- 45) Weichard und Schrader, Med. Klinik, 1919, No. 6.
- 46) Wendtlandt, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 30, 1920, Heft 2.
- 47) Wodtki, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 15.
- 48) Wolfenstein, Berl. klin. Wochenschr., 1919, No. 47.
- 49) Zurkelle, Dermat. Zeitschr., Bd. 28, p. 179.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in
Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Verlauf der Agglutininbildung bei Infektion normaler und immunisierter Tiere.

Von Dr. I. Tsukahara.

Mit 22 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1921.)

I.

Die Agglutinine, die nach dem Ueberstehen einer Infektionskrankheit in dem Blute des Menschen zurückbleiben, sind, wie bekannt, oft noch wochen- und monatelang nachweisbar. Besonders beim Typhus sind diese Verhältnisse genauer studiert worden, weil hier die Agglutinationsprüfung in der Form der Widalschen Probe ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel darstellt.

Schon von Anfang an war man sich der Fehlerquelle bewußt, mit der die Serodiagnostik des Typhus infolge der längeren Persistenz der Agglutinine im Blute der Genesenen unter Umständen zu rechnen hat. Bei einer fieberhaften Erkrankung zweifelhaften Charakters ist ein positiver Ausfall der Widalschen Reaktion eben nicht beweisend, wenn der Betreffende einige Zeit vorher einen Typhus überstanden hat. Will man Trugschlüssen begegnen, so ist die Anamnese des Falles sorgfältig zu erheben und zu berücksichtigen.

In den Kriegsjahren sind nun aber weiterhin erhebliche Schwierigkeiten dadurch entstanden, daß die Armeen der kriegführenden Länder in größtem Umfange der Typhusschutzimpfung unterzogen worden sind, und daß auch unter der Zivilbevölkerung sowie in anderen Ländern vielfach Schutzimpfungen vorgenommen wurden. Da das Blut schutzgeimpfter Personen ebenso wie Kranken- und Rekonvaleszentenblut eine positive Widalsche Reaktion gibt und diese Eigenschaft noch längere Zeit nach der Impfung bewahrt, so war unter solchen Verhältnissen der diagnostische Wert der Agglutinationsprobe

außerordentlich herabgesetzt und eigentlich ganz in Frage gestellt. Einen befriedigenden Ausweg zu finden, ist nicht geglückt. Es ist im gegebenen Fall nicht sicher zu entscheiden, ob ein positiver Widal bei Schutzgeimpften, die von einer fieberhaften Erkrankung befallen werden, auf diese Erkrankung zu beziehen ist oder aber auf die frühere Schutzimpfung. Weder die Stärke der Agglutination noch das Ansteigen des agglutinatorischen Titers im Verlaufe der Krankheit bieten eine sichere Gewähr dafür, daß der Reaktion eine pathognomonische Bedeutung zukommt.

Inwieweit die Mitagglutination von Paratyphus A-Bazillen, wie sie von Braun und Ließ empfohlen worden ist, eine völlige Lösung der Schwierigkeiten ermöglicht, dürfte noch nicht genügend klargestellt sein (vgl. Schäfer, Schürer und Goldschmidt). Das gleiche gilt von der Mitagglutination des B. enteritidis, auf die Dawson die Aufmerksamkeit gelenkt hat. Auch die Angabe von Dreyer und Walker, daß bei Typhus das Maximum der Agglutinationswirkung stets zwischen dem 16. und 24. Tage der Erkrankung erreicht werde, was bei andersartigen Infektionen nicht der Fall sei, läßt sich wohl in der Praxis nicht immer leicht verwerten.

Die Frage wird fernerhin dadurch kompliziert, daß schlummernde und scheinbar verschwundene Agglutinine unter dem Einfluß einer beliebigen fieberhaften Infektion offenbar wieder neu erweckt werden können. Durch Reiß, Zinßer und Kathe u. a. wurde auf diese Verhältnisse aufmerksam gemacht, besonders haben dann aber Conradi und Bieling systematische Untersuchungen angestellt. Sie fanden, daß bei Miliartuberkulose, Fünftagefieber, Y-Ruhr, Malaria, Pneumonie, Erysipel, Weilscher Krankheit, Mandelabszeß die Typhusagglutinine deutlich in die Höhe gingen, zum Teil auf das 3-fache des Ausgangswertes, wenn es sich um schutzgeimpfte Personen handelte. Zu den gleichen Ergebnissen gelangte Fleckseder, der in 70 Fällen fieberhafter Erkrankung eine Mobilisierung alter Typhusagglutinine feststellen konnte. Meistens rührten die Agglutinine von einer früheren Schutzimpfung her, teilweise auch von einem vor längerer Zeit überstandenen Typhus. Weitere Beobachtungen zeigen, daß ähnliche Verhältnisse auch bei anderen Krankheiten vorzuliegen scheinen. So können beispielsweise Ruhrgenesene, auch wenn ihre Erkrankung längere Zeit zurückliegt, späterhin im Verlaufe einer Typhus-, Paratyphus-, Fleckfieberinfektion usw. einen ausgesprochenen Ruhr-Widal zeigen. Die positive Wassermannsche Reaktion, die gelegentlich bei Fleckfieberkranken nachweisbar ist, beruht zum Teil auf unspezifischer Nebenwirkung, zum Teil hängt sie aber wohl auch mit früher überstandener Syphilis zusammen. Die Literatur über derartige Beobachtungen ist namentlich in den Kriegsjahren sehr umfangreich geworden, und es ließe sich noch eine ganze Reihe ähnlicher Beispiele anführen.

Es leuchtet ein, daß das wissenschaftliche Interesse, das diese Frage bietet, fast noch größer ist, als ihre praktische Bedeutung. Inwieweit der Serodagnostik für die Zukunft Schwierigkeiten erwachsen werden, muß sich zeigen, sobald die Zeit der umfangreichen Schutzimpfungen und der Durchseuchung größerer Menschenmassen erst weiter zurückliegt. Für die Auffassung der Immunitätsreaktionen aber, sowie überhaupt für das ganze Immunitätsproblem bei gewissen Infektionskrankheiten sind die erwähnten Erfahrungen von außerordentlichem Werte. Wenn auch die Agglutinine vielleicht nicht unmittelbar als eigentliche Schutzstoffe angesehen werden dürfen, so geben sie doch unzweifelhaft einen Maßstab ab für die Abwehrreaktion und die Reaktionsfähigkeit des Organismus. Findet man also, daß der Körper, der nach dem Ueberstehen einer Infektionskrankheit immun geworden und geblieben ist, auch wenn die Schutzstoffe bzw. Agglutinine aus seinem Blute wieder verschwunden sind, auf einen neuen unspezifischen Reiz hin diese Schutzstoffe in größeren Mengen neu zu produzieren und an das Blut abzugeben vermag, so erkennen wir damit ohne weiteres seine veränderte Reaktionsfähigkeit.

So hat es denn nicht an Arbeiten gefehlt, die sich bemüht haben, auch auf experimentellem Wege, im Tierversuch, das Problem weiter zu klären. Zum besseren Verständnis ist es aber nötig, zunächst zu berücksichtigen, wie sich überhaupt die Antikörperbildung und das Auftreten von Antikörpern im Blute immunisierter Tiere entwickelt.

Schon Brieger und Ehrlich haben wohl als die ersten für das Tetanusantitoxin diese Verhältnisse studiert und graphisch dargestellt. Sie prüften den Antitoxingehalt der Milch einer mit Tetanusgift immunisierten Ziege und konnten zeigen, daß das Auftreten des Antitoxins wellenförmig, und zwar in ganz gesetzmäßiger Weise verläuft. Für das Diphtherieantitoxin gelangten dann Salomonsen und Madsen zu ähnlichen Feststellungen. Bei ihren Untersuchungen, die an diphtherieimmunisierten Pferden vorgenommen wurden, ergab sich, daß bei wiederholter Toxininjektion auf die einzelne Einspritzung zunächst ein starker Abfall des Antitoxingehaltes folgte, und daß alsdann der Antitoxinwert über die ursprünglich vorhandene Grenze in stetiger Zunahme anstieg. Der Höhepunkt wurde nach etwa 9—12 Tagen erreicht. Im Gegensatz hierzu beobachtete Morgenroth, daß bei Ziegen nach wiederholter Injektion von Lab der Antilabgehalt der Milch wieder rascher ansteigt und schon

nach 1–3 Tagen den Höhepunkt erreicht, ohne daß es vorher zu einem Abfall des Antikörpergehaltes kommt. Für die hämolytischen Antikörper liegen Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth, Schütze und Scheller, Bulloch u. a. vor, die zum Teil nicht ganz übereinstimmende Ergebnisse lieferten und zeigen, daß die Injektionsdosis, die Art der Injektion und die Individualität der Versuchstiere wohl von Bedeutung sind. Nach intravenöser und intraperitonealer Injektion von Rinderblut fand Bulloch bei Kaninchen vom 4. Tage an einen kritischen Eintritt des Hämolsins in die Blutbahn und ein Maximum nach wenigen Tagen. Eine erneute Injektion bewirkte zunächst Abfall des Hämolsingehaltes, der aber gewöhnlich nach 24–36 Stunden wieder ausgeglichen ist; dann folgt häufig ein Anstieg über den vor der Injektion vorhandenen Anfangswert.

Versuche, die v. Dungern hinsichtlich der Bildung von Präzipitinen gegenüber Maja- und Octopusplasma vornahm, betreffen speziell die Frage, inwieweit die Antikörperkurve bei erstmalig injizierten Tieren sich von der Antikörperkurve bei wiederholten Injektionen unterscheidet. Er konnte feststellen, daß normale Kaninchen nach intravenöser Einspritzung von Majaplasma erst vom 5. bis 6. Tage an Präzipitin im Serum aufweisen. Der Präzipitingehalt nimmt dann rasch zu und erreicht schon nach ungefähr 2 Tagen die höchste Stärke. Für Octopuspräzipitin war das Verhalten ganz analog, nur daß das Präzipitin schon nach 4 Tagen nachweisbar war und nach 6 Tagen seine stärkste Konzentration erreichte. Demgegenüber erscheint bei spezifisch vorbehandelten Kaninchen der präzipitierende Antikörper nach erneuter intravenöser Einführung von Majaplasma früher als bei erstmalig injizierten Kaninchen. Besitzen die Tiere im Augenblick der erneuten Injektion noch einen hohen Antikörpergehalt, so folgt sofort auf die Einspritzung zunächst ein rascher Abfall der Präzipitine. Wichtig ist aber die weitere Beobachtung, daß auch solche Kaninchen, welche in ihrem Blute gar keine Antikörper mehr besitzen und sich daher vom gewöhnlichen Kaninchen anscheinend nicht mehr unterscheiden, auf die Einverleibung des Antigens ebenfalls mit abgekürzter Latenzperiode reagieren und zugleich mit deutlich verstärkter Antikörperbildung. Das Präzipitin läßt sich in solchen Fällen schon am 3. Tage nach der Einspritzung im Blute nachweisen.

Der anaphylaktische Antikörper entwickelt sich nach Friedberger und Mita beim vorbehandelten Tiere, wie sich mit Hilfe der Fieberreaktion nachweisen läßt, schon sehr frühzeitig, und zwar bereits 24 Stunden nach der Antigenzufuhr. Auch das „Inkubationsstadium“ verrät also durch den Temperaturanstieg die Antikörperentwicklung, obwohl wir diese durch die gewöhnliche Untersuchungstechnik der Antigen-Antikörperreaktion in vitro zunächst noch nicht zur sinnlichen Wahrnehmung zu bringen vermögen. Die Antikörperbildung vollzieht sich somit nicht kritisch, sondern allmählich. Die Beeinflussung der Körpertemperatur durch das artfremde Eiweiß ist im übrigen beim vorbehandelten Tier ganz enorm gesteigert im Vergleich zum normalen Tier.

Den bisher angeführten Untersuchungsergebnissen entsprechen im wesentlichen auch die Resultate, die man bezüglich der uns hier im besonderen interessierenden Agglutininbildung erhalten hat. Wie Joergensen und Madsen, Joergensen, Stäubli u. v. a. fanden, verläuft bei einer einmaligen Injektion (Typhus, Cholera, *B. coli* usw.) die Agglutinincurve in der Regel so, daß nach einem Latenzstadium von 2—3 Tagen ein Anstieg erfolgt, mit einem Maximum etwa um den 9. Tag, worauf sich der Abfall langsam und kontinuierlich über längere Zeit vollzieht. Die Frage, in welcher Weise das vorbehandelte Tier auf eine erneute Bakterieneinverleibung mit Agglutininproduktion reagiert, ist demgegenüber nur vereinzelt geprüft worden, wenigstens soweit es sich um den Fall handelt, daß die erstmalig erzeugten Agglutinine wieder vollständig oder doch größtenteils aus dem Blute verschwunden sind. Versuche dieser Art hat schon vor längerer Zeit Cole ausgeführt. Dieser Autor machte es sich zur Aufgabe, an typhusimmunisierten Tieren (Kaninchen), deren Agglutinationstiter wieder stark zurückgegangen war, die Reaktionsfähigkeit gegenüber einer zweiten Injektion von Typhusbakterien festzustellen. Die von ihm gewählte Versuchsanordnung bestand darin, daß nach einmaliger Vorbehandlung der Kaninchen und Absinken des Agglutinationstiters eine geringe Menge lebender Typhuskultur von neuem injiziert wurde, und zwar die kleinste Dosis, die nach Vorversuchen gerade noch ausreichte, um bei normalen Tieren einen Ausschlag im Serum zu erzielen. Bei einem Kontrolltier bewirkte die Injektion einer solchen Bakterienmenge ($\frac{1}{400}$ Oese) nur einen Agglutinationstiter von 1:50, während die vorbehandelten Tiere, deren Serum nur noch 1:100 bzw. 1:200 agglutinierte, auf die Injektion der gleichen Dosis ein agglutininierendes Serum von 1:900 lieferten. Es ergibt sich zugleich aus den der Arbeit beigegebenen Kurven, daß die Entwicklung der Agglutinine sich bei den reinjizierten Immuntieren in langsamem Anstieg vollzog und nach ca. 8—10 Tagen ihren Höhepunkt erreichte. Die Reaktion war also gegenüber der Norm zwar deutlich verstärkt, aber nicht beschleunigt.

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß namentlich für die Deutung der Typhusimmunität derartige Versuche erheblichen Wert besitzen. Auch heute noch bestehen ja Meinungsverschiedenheiten über das Wesen der Typhusimmunität, und während man auf der einen Seite die spezifischen Schutzstoffe, insbesondere die Pfeifferschen Bakteriolyse, als die Ursache der Immunität betrachtet, nehmen andere eine besondere Gewebsimmunität an. Die letztere Anschauung geht von der Tatsache aus, daß bei Menschen, die einen Typhus überstanden haben und damit für lange Jahre, vielleicht für das ganze Leben typhusimmun geworden sind, der Immunitätszustand anscheinend nicht gebunden ist an die Anwesenheit der Immunstoffe des Serums. Auch wenn das Serum längst frei von Agglutininen und Bakteriolyse geworden ist, besteht die Immunität des Individuums noch fort.

Es ist klar, daß dieser Schluß kein zwingender ist, und es ist wohl mit Recht die Möglichkeit in Betracht gezogen

worden, daß auch nach dem Verschwinden der Schutzstoffe aus dem Blute der immunisierte Organismus doch noch eine erhöhte Schlagfertigkeit bewahrt hat, d. h. bei einer neuen Infektion sofort in verstärktem und beschleunigtem Maße mit spezifischer Antikörperbildung zu reagieren vermag.

Diese Auffassung ist neuerdings wieder von Bessau stark betont und erläutert worden. Die Coleschen Versuche stützen sie. Ihr treten auf Grund von größeren Beobachtungsreihen v. Liebermann und Acél entgegen. Sie haben ihre Versuche an Meerschweinchen angestellt und neben anderen Fragen vor allem zu entscheiden gesucht, wie es sich mit dem erneuten Auftreten von Abwehrstoffen im Blutserum verhalte unter dem Einfluß einer Reinjektion bei Tieren, die schon vor längerer Zeit gegen Typhus immunisiert wurden und tatsächlich immun sind, in ihrem Serum aber keine bemerkenswerten bakteriziden usw. Eigenschaften mehr besitzen. Es zeigte sich in ihren Versuchen, daß ein Wiedererscheinen von spezifischen Antikörpern (Agglutininen und Bakteriolytinen) zwar stattfindet, aber erst nach mehreren Tagen, also so spät, daß sie für die Abwehr nicht mehr in Betracht kommen. Sie lehnen demgemäß für den von ihnen studierten Fall der Typhusimmunität die entscheidende Wirkung der spezifischen Serumstoffe ab und sprechen sich zugunsten einer rein zellulären oder Gewebsimmunität aus.

Hier sind nun aber auch alle jene Beobachtungen mit-heranzuziehen, die lehren, daß immunisierte Tiere selbst durch eine unspezifische Nachbehandlung, insbesondere durch Nachimpfung mit andersartigen Bakterien, zur Neuerzeugung der alten Immunstoffe gebracht werden können.

Diese Frage ist speziell für die Agglutininbildung von Dreyer und Walker näher untersucht worden. Sie haben Kaninchen mit abgetöteten Kulturen von *B. coli* immunisiert und dann einige Zeit später, nachdem der Agglutinationstiter wieder stark heruntergegangen war, Nachimpfungen mit Staphylokokken oder Friedländerbazillen und Streptokokken vorgenommen. Das Resultat war, daß diese Nachimpfungen den Agglutinationstiter für *B. coli* außerordentlich steigerten. Die Agglutininproduktion vollzog sich dabei teils in fast unmittelbarem Anschluß an die Neuimpfung, teils nach einem Stadium des Stillstandes bzw. eines mehr oder minder starken Sturzes der Agglutinationswirkung. Schon vorher hatte Verney bei Immunisierung von Tieren mit mehreren Bakterienarten in einzelnen Versuchen eine ähnliche wechselseitige Beeinflussung gefunden. Fleckseder hat neuerdings am Menschen Beobachtungen angestellt und zugleich gezeigt, daß auch nichtbakterielle, fiebererzeugende Substanzen, wie Deuteroalbumose und Nukleinsäure, imstande sind, eine „Ausschwemmung“ von Agglutininen in die Blutbahn zu bewirken. Das entspricht den älteren Angaben von Dieudonné (Hetol) u. a.

Es sind dann von Conradi und Bieling weitere eingehende Untersuchungen über die Wirkung eines unspezifischen Bakterienreizes bei vorbehandelten Tieren vorgenommen worden. Sie impften Kaninchen zunächst mit abgetöteten Typhusbazillen (intravenös) und spritzten ihnen einige Tage später, nach Abfall des agglutinatorischen Titors, lebende Colibazillen bzw. Ruhrbazillen (Shiga-Kruse) oder Diphtheriebazillen ein. In jedem Falle erhielten sie einen beträchtlichen Wiederanstieg der Typhusagglutinine. Auch umgekehrt ließ sich durch die Nachbehandlung mit abgetöteten Typhusbazillen bei einem primär mit Paratyphus A-Bazillen immunisierten Kaninchen eine starke Vermehrung der Paratyphusagglutinine herbeiführen. In diesem Falle, wie auch bei der Reaktivierung der Typhusagglutinine durch Ruhrbakterien, folgte der Anstieg des Agglutinationstiters für die primäre Bakterienart dem Anstieg des Titors für die sekundär injizierten Bakterien. Dies sei im Hinblick auf die folgenden Untersuchungen von Bieling schon hier hervorgehoben. Conradi und Bieling haben das Phänomen des Wiederauflebens von Agglutininen unter der Einwirkung einer neuen unspezifischen bakteriellen Infektion mit der sehr treffenden Bezeichnung der „anamnestischen Serumreaktion“ belegt.

Die weitere von Bieling vorgenommene Analyse der Vorgänge bei Reinjektionen berücksichtigt neben der Einspritzung fremder Bakterienarten auch die Reinjektion der gleichen Art. Seine Versuche, die er ebenfalls an Kaninchen anstellte, beziehen sich auf Ruhrbazillen (Typus Shiga-Kruse und Y) und Typhusbazillen und gipfeln in dem Resultat, daß die Agglutinincurve der anamnestischen Reaktion sich grundsätzlich von einer gewöhnlichen Agglutinincurve unterscheidet. Nach seinen Beobachtungen ist die anamnestische Reaktion dadurch charakterisiert, daß die vermehrte Agglutininbildung ohne Inkubation, sofort nach der Injektion, beginnt und in den meisten Fällen einen wellenförmigen Verlauf mit zwei Gipfeln zeigt. Sie läßt sich aber, wie erwähnt, nur durch einen unspezifischen Reiz erzielen, d. h. wenn die Nachbehandlung mit andersartigen Bakterien vorgenommen wird. Die Kurve, die dem Antigen der Nachbehandlung entspricht, zeigt das gewöhnliche Verhalten, also einen allmählichen Anstieg, der erst einige Zeit nach der Injektion einsetzt. Entgegen den Angaben von Conradi und Bieling würde hiernach die sekundäre Agglutinincurve der primären folgen, nicht umgekehrt. Bemerkenswert ist ferner, daß nach den Untersuchungen Bielings eine Nachbehandlung mit der homologen Bakterienart zwar ebenfalls einen Wiederanstieg der Agglutinine bewirkt, aber nicht nach dem Typus der anamnestischen Kurve, sondern in langsamer Entwicklung, ähnlich wie bei erstmalig injizierten Tieren.

Schon diese kurze Literaturübersicht, die keineswegs den Anspruch auf Vollständigkeit macht, läßt erkennen, daß in einer Reihe von Punkten die Feststellungen der Autoren auseinandergehen. Daß die Reinjektion des homologen Antigens

in der Regel eine verstärkte Reaktion zur Folge hat, wird zwar meistens anerkannt, doch trifft dies anscheinend nur dann zu, wenn der Antikörpergehalt vorher nicht wieder vollständig zur Norm abgesunken war. In dem letzteren Falle wollen, wie erwähnt, z. B. v. Liebermann und Acél einen Unterschied zwischen einer primären und sekundären Reaktion nicht beobachtet haben. Auch hinsichtlich der Art und Weise, wie sich die sekundäre Antikörperkurve, im besonderen die Agglutinincurve, entwickelt, findet man widersprechende Angaben. Teils soll der erneute Anstieg rasch und unmittelbar einsetzen, so daß schon hierin ein wesentlicher Unterschied gegenüber der Reaktion eines normalen Tieres liegen würde, teils wird angegeben, daß auch die Reinjektion ganz wie eine erstmalige Impfung die Antikörper (Agglutinine) erst nach einem gewissen Inkubationsstadium im Blute auftreten läßt; und endlich zeigt sich in einer Reihe von Fällen, daß die Reinjektion erst nach der bekannten „negativen Phase“, also einem vorübergehenden Absturz der Antikörper, zu einem erneuten und verstärkten Anstieg führt. Es ist klar, daß neben individuellen Besonderheiten des einzelnen Versuchstieres die Bakterienart, die Dosierung, der Infektionsmodus und vor allen Dingen der Zwischenraum zwischen den einzelnen Injektionen von größter Bedeutung sein müssen und vermutlich die eben berührten Widersprüche zum großen Teil erklären.

Auch die „anamnestische“ Reaktion erscheint nach den vorliegenden Veröffentlichungen noch nicht völlig geklärt. Insbesondere zeigen die hierdurch bedingten Agglutinincurven (anamnestische Agglutinincurven) mancherlei Unregelmäßigkeiten und Widersprüche. Ich habe es daher gern unternommen, diese Frage zum Gegenstand eigener experimenteller Prüfung zu machen.

II.

Meine eigenen Versuche beschäftigen sich mit der Frage, wie vorbehandelte Tiere auf die Injektion der gleichen oder aber einer anderen Bakterienart mit Antikörperbildung reagieren. Als Maßstab wurde die Agglutininbildung genommen. Es sollte nach Möglichkeit erstrebt werden, die Reinjektion erst dann vorzunehmen, wenn der durch die erste

Einspritzung bedingte Agglutiningehalt des Blutes wieder vollständig verschwunden war. Leider ließen sich die Versuchsbedingungen in dieser idealen Weise meist nicht erfüllen, indem die Tiere selbst nach monatelangem Zuwarten immer noch eine verhältnismäßig starke Agglutinationskraft des Serums von 1:100, 1:200 und selbst noch mehr aufwiesen. Obwohl die Vorbehandlung immer nur in einer einmaligen Einspritzung einer relativ kleinen Dosis bestand, waren die Folgen der Reaktion oft noch lange Zeit nachweisbar. Auch kam hinzu, daß durch unvorhergesehene Zwischenfälle (Stallinfektion) viele der längere Zeit aufbewahrten Tiere während des Versuches eingingen. Immerhin war es uns möglich, bei einer Anzahl von Versuchstieren die Beobachtung in der gewünschten Weise durchzuführen.

Die Versuche wurden an Kaninchen vorgenommen. Vor jedem Versuch und ebenso vor jeder Neueinspritzung wurde das Serum des Tieres auf seine agglutinierenden Eigenschaften geprüft. Die Kulturen, die zur Verwendung gelangten, waren ein Typhusstamm (Typhus Str.), ferner drei Stämme von Y-Ruhrbazillen (Stämme Fr., B., Brg.), sowie ein Cholera- und ein Paratyphusstamm. Zur Impfung der Tiere dienten Aufschwemmungen frischer Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung, die teils lebend, teils abgetötet injiziert wurden. In dem letzteren Falle wurde die Abtötung durch einstündiges Erhitzen auf 70° im Wasserbad vorgenommen; vor der Verwendung der Aufschwemmung wurde die Sterilität durch Verimpfung eines großen Tropfens auf Nährbouillon kontrolliert. Die Einspritzungen erfolgten stets intravenös, und zwar so gut wie ausnahmslos mit der stets gleichen Bakterienmenge von $\frac{1}{10}$ Oese.

Es wurde mit Absicht sowohl zur Vorbehandlung als auch zur Nachbehandlung diese stets gleichbleibende relativ kleine Bakteriendosis gewählt, weil sich einmal gezeigt hatte, daß hierdurch auch schon beim normalen Tier relativ starke Ausschläge zu erhalten sind und weil es uns ferner, speziell für die Nachbehandlung, erwünscht schien, ähnlich wie Cole, Bieling u. a. gerade die Wirkung geringer Bakterienmengen zu studieren. Daß überdies bei erstmalig gespritzten Tieren die Hoffnung bestand, nach Anwendung kleiner Dosen die Agglutinine wieder rasch aus dem Blute verschwinden zu sehen, wurde bereits vorher erwähnt.

Die Zeit zwischen Vor- und Nachbehandlung schwankte zwischen 4 Wochen und 6 Monaten. Näheres darüber ist aus den einzelnen Versuchen zu ersehen.

Die Agglutinationsprüfung vollzog sich so, daß den Versuchstieren im Anschluß an die 1. oder 2. Impfung täglich kleine Blutproben aus der Ohrvene entnommen wurden, am 1. Tage zwei Proben, und zwar 2 Stunden und 6 Stunden nach der Impfung. Die Blutentnahme wurde bis zu 2 und 3 Wochen nach der Impfung fortgesetzt. Bei der Anstellung der Agglutination, die sich stets auf die sechs genannten Bakterienstämme bezog, wurde in der üblichen Weise verfahren. Die Röhrchen wurden zunächst 2 Stunden im Brutschrank bei 37° und alsdann noch ca. 20 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten, das Resultat makroskopisch unter Lupenkontrolle bei elektrischem Licht festgestellt und sowohl nach 2 Stunden als auch nach 24 Stunden notiert. Bei dem Typhusstamm und bei einzelnen Ruhrstämmen ergab sich gelegentlich bei 24-stündiger Beobachtung ein höherer Agglutinationstiter, doch waren im allgemeinen die Unterschiede in den Ergebnissen der 2-stündigen und 24-stündigen Beobachtungsdauer nicht sehr wesentlich.

Zunächst sollte ermittelt werden, wie sich die Agglutininbildung bei normalen Kaninchen vollzieht, unter Verwendung unserer Stämme und nach intravenöser Injektion unserer Gebrauchsdosis von $\frac{1}{10}$ Oese. Der erste Versuch wurde mit dem Typhusstamm angestellt. Den Verlauf veranschaulicht Fig. 1.

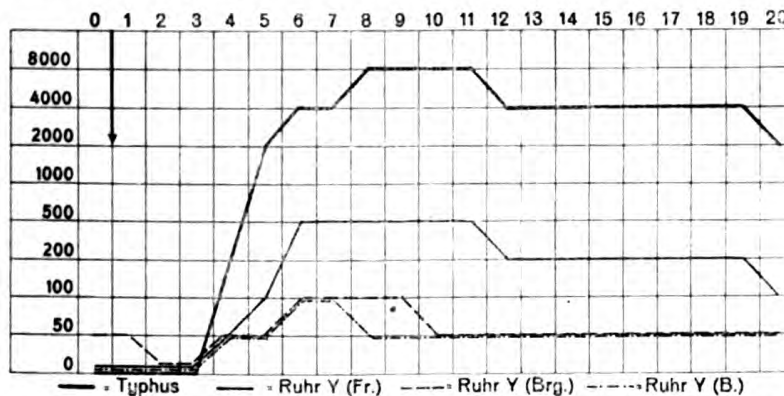
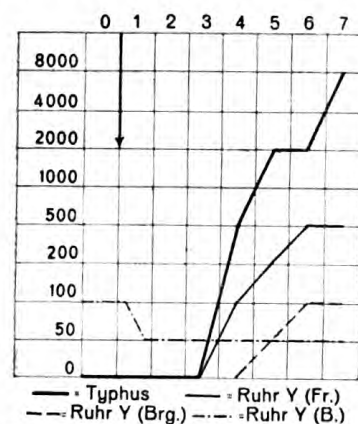


Fig. 1. Kaninchen 2, 1400 g. Behandlung: Typhus (Str.) 14. XI. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.

Es geht daraus hervor, daß das Serum des Tieres zu Beginn des Versuchs vollkommen frei von Typhusagglutininen war und erst vom 3. zum 4. Tage nach der Impfung einen erkennbaren Agglutiningehalt aufwies. Der Höhepunkt wurde am 8. Tage erreicht. Die Agglutinationskraft des Serums erhielt sich bis zum 11. Tage in gleicher Stärke und blieb noch weiterhin bis zum 19. Tage ebenfalls hoch, um dann an-

scheinend abzusinken. Also offenbar der gewöhnliche, auch sonst meist beobachtete Verlauf. Bemerkenswert ist höchstens, daß die einmalige Einspritzung einer so geringen Menge lebender Kultur schon einen Agglutinationstiter von 1:8000 hervorbrachte. Was uns aber von besonderer Bedeutung erscheint, sind die gleichzeitig miteingetragenen Kurven der Ruhragglutinine. Hier ist es namentlich der Stamm Fr., der eine ziemlich starke Mitagglutination erkennen läßt. Auf diese Tatsache sei schon hier verwiesen, weil, wie wir später sehen werden, die Berücksichtigung der Mitagglutination unerläßlich ist, wenn man bei vorbehandelten Tieren über die



Paratyphus und Cholera nicht agglutiniert.

Fig. 2. Kaninchen 11, 1650 g. Behandlung: Typhus (Str.) 8. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

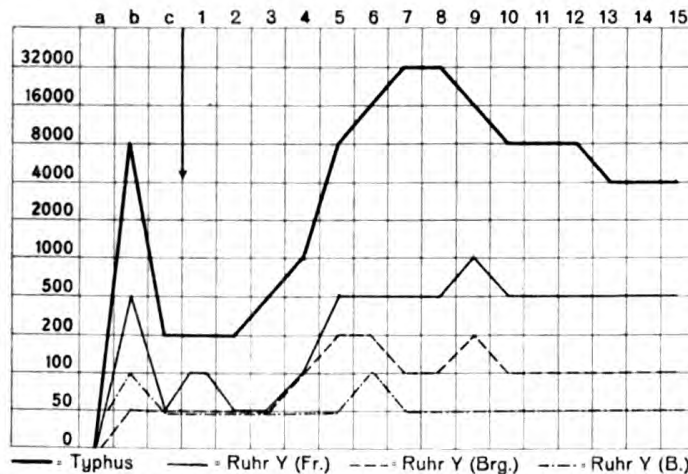
Frage der sekundären Reaktion bzw. der anamnестischen Reaktion ins klare kommen will. In der bisherigen Literatur scheint uns diesem Umstand nicht immer in erforderlicher Weise Rechnung getragen zu sein.

Ein zweiter Versuch, unter den gleichen Bedingungen vorgenommen, nur mit dem Unterschiede, daß statt lebender Bakterien eine abgetötete Typhuskultur Verwendung fand, lieferte, wie Fig. 2 lehrt, ganz übereinstimmende Ergebnisse: Auch hier vom 3. zum 4. Tage Auftreten der Typhusagglutinine und ziemlich

beträchtliche Mitagglutination des Stammes Y-Ruhr Fr. Wegen frühzeitigen Todes des Versuchstieres konnte die Beobachtung nicht über den 7. Tag hinaus fortgesetzt werden, doch gibt der Verlauf bis dahin schon den gewünschten Ueberblick.

Wie vollzieht sich nun die Agglutininbildung bei erneuter Injektion von Typhusbakterien? Hierfür sei als Beispiel Fig. 3 angeführt. Der Versuch betrifft ein Kaninchen, das mit lebender Typhuskultur ($\frac{1}{10}$ Oese) gespritzt worden war, einen Agglutinationstiter von 1:8000 erlangt hatte, dann wieder in seinem Agglutiningehalt bis auf 1:200 heruntergegangen war. An diesem Zeitpunkt, und zwar mehr

als 6 Monate seit der ersten Einspritzung, wurde die zweite Impfung vorgenommen. Der erneute Anstieg und der ganze Verlauf, wie ihn Fig. 3 zeigt, ist durchaus charakteristisch für die Reaktion, wie wir sie auch sonst bei Typhus, Ruhr und anderen Bakterienarten immer wieder gesehen haben und später noch weiterhin kennen lernen werden. Es unterscheidet sich eben diese sekundäre Kurve in keiner nennenswerten Weise von einer primären Agglutinincurve bei erstmalig injizierten Tieren. Die Agglutination ist zwar, wenn sie zum



Cholera nicht beeinflußt, Paratyphus bis 1:200 mitagglutiniert.

Fig. 3. Kaninchen 4, 1800 g.

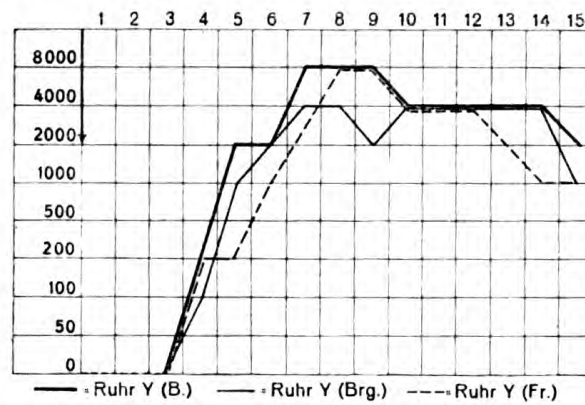
Vorbehandlung: Typhus (Str.) 22. V. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.
Nachbehandlung: Typhus (Str.) 1. XII. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.

Anm.: Die mit a, b, c bezeichneten Rubriken geben an: den Titer vor Beginn der Behandlung (a), den höchsten Agglutinationstiter, der nach der ersten Injektion erreicht wurde (b), und den Titer am Tage vor der zweiten Impfung (c).

Höhepunkt gelangt, eine etwas weitergehende (1:32000) als nach der ersten Einspritzung (1:8000), doch läßt sich dieser stärkere Ausschlag wohl ohne weiteres darauf zurückführen, daß der Titer des Serums schon im Augenblick der Reinjektion 1:200 betragen hatte. Jedenfalls findet auch bei der Reinjektion das Auftreten der Agglutinine erst nach einem Latenzstadium von 2–3 Tagen statt, und wenn auch in dem hier vorliegenden Beispiel das erste Auftreten der Agglutinine und der Gipfelpunkt der Kurve um je 1 Tag früher zu

verzeichnen waren als z. B. in Versuch 1, so handelt es sich doch offenbar nur um Zufälligkeiten ohne prinzipielle Bedeutung. Das zeigt der Vergleich mit manchen der späteren Kurven. Eine stärkere Mitagglutination des Ruhrstammes Fr., entsprechend dem höheren Titer des Serums, ist wiederum zu beobachten.

In gleicher Weise wurden nun die Verhältnisse gegenüber Ruhrbakterien geprüft. Zur Behandlung des Tieres wurde der Stamm B. gewählt. In Fig. 4 sind die 3 Agglutinationskurven für die Y-Ruhrstämme B., Fr. und Brg. wieder-



Typhus, Paratyphus und Cholera nicht agglutiniert.

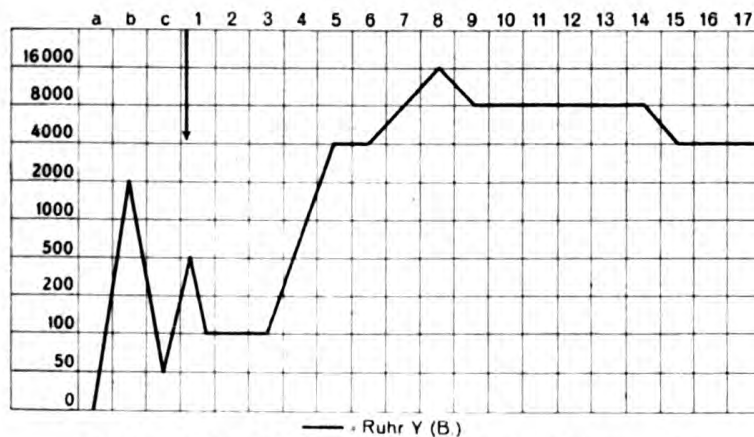
Fig. 4. Kaninchen 24, 2000 g. Behandlung: Ruhr Y (B.) 30. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

10. bis 14. Tage und folgendes Absinken. Die Agglutinationskurve ist für alle 3 Ruhrstämme ungefähr die gleiche. Der Stamm Fr. zeichnet sich also nicht etwa durch eine besonders leichte Agglutinierbarkeit aus.

Versuch 5 betrifft die Wirkung der Reinjektion von Ruhrbakterien bei einem früher mit Ruhrbakterien vorbehandelten Tier. Für beide Einspritzungen wurden lebende Bakterien verwendet. In diesem Falle war vor der Reinjektion der Agglutinationstiter von 1:2000 auf 1:50 abgesunken, also wieder nahezu vollständig verloren gegangen. Hierzu hatte es einer Zeit von über 5 Monaten bedurft. Die erneute Einspritzung von Ruhrbakterien führte nun aber, wie Fig. 5 lehrt, zu einer besonders intensiven Erzeugung von Agglutininen, so daß das Serum schließlich einen Titer von 1:16000 auf-

gegeben. Auch hier haben wir etwa den gleichen Verlauf wie bei der Typhuskurve, d. h. nach einem Inkubationsstadium von 3 bis 4 Tagen ziemlich steilen Anstieg der Agglutinine mit einem Höhepunkt vom 7. bis 9. Tage, einen weiteren Hochstand vom

wies. Unzweifelhaft hat hier bei dem vorbehandelten Tier die Einverleibung der gleichen Bakterienmenge eine ungleich stärkere Agglutininproduktion angeregt, als ursprünglich bei dem normalen Tier. Die Reaktionsfähigkeit war in diesem Falle gegenüber der Norm sicher sehr erheblich verstärkt, was wohl nur auf den durch die erste Injektion veränderten Zustand des Organismus zurückgeführt werden kann. Im übrigen ist aber auch hier eine beschleunigte Antikörperbildung nicht deutlich erkennbar. Im wesentlichen entwickelt sich die Agglutininbildung bzw. das Auftreten der Agglutinine im Blutserum



Typhus 1:50, Paratyphus 1:50—100, Cholera = 0.

Fig. 5. Kaninchen 1, 2050 g.

Vorbehandlung: Ruhr Y (B.) 22. V. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.
Nachbehandlung: Ruhr Y (B.) 3. XI. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.

in der Zeit vom 3.—8. Tage. Das plötzliche Aufschnellen des Agglutinationstiters am 1. Tage, schon 2 Stunden nach der Einspritzung, dem aber gleich wieder ein Absinken folgt, kann kaum als beschleunigte Reaktionsfähigkeit gedeutet werden. Es sei schon hier bemerkt, daß diese Kurvenzacke eine gewisse Aehnlichkeit besitzt mit dem von Bieling für die anamnestiche Kurve für charakteristisch gehaltenen Verlauf.

In den nächsten Versuchen wurde weiterhin geprüft, wie sich die Agglutininbildung gestaltet, wenn nicht die homologe, sondern eine andersartige Bakterienart zur Nachbehandlung verwendet wird. Es dienten hierzu die beiden

gleichen Stämme, die wir bisher gesondert betrachtet haben, nämlich Typhus Str. und Y-Ruhr B. Die Versuchsanordnung bestand darin, daß einige Tiere zuerst mit Typhus und später mit Ruhr behandelt wurden, andere Tiere umgekehrt zuerst mit Ruhr und späterhin mit Typhus. Wir führen als Beispiele 5 Versuche an.

Die beiden Versuche, die sich auf den Fall der Vorbehandlung mit Typhus und Nachbehandlung mit Ruhrbakterien beziehen, sind in mehrfacher Hinsicht von Interesse. Bei dem einen Tier (Fig. 6) war der Agglutinationstiter von 1:4000 wieder heruntergegangen auf 1:1000, und zwar im Verlauf von 2 Monaten. Als nun eine Einspritzung von Ruhrbakterien vorgenommen wurde, zeigte, abgesehen von einem kurzen Ab-

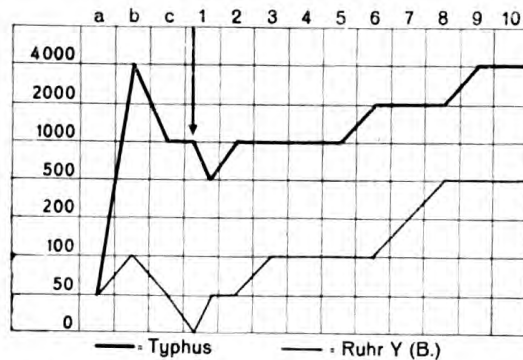


Fig. 6.

Kaninchen 37, 2000 g.

Vorbehandlung: Typhus
(Str.). 1. IV. 1920.
 $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet,
intravenös.

Nachbehandlung: Ruhr
Y (B.). 3. VI. 1920.
 $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet,
intravenös.

Paratyphus und Cholera
nicht beeinflußt.

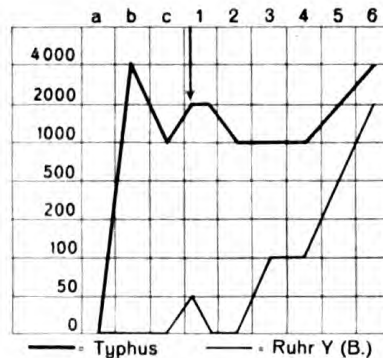
sinken am 1. Tage, die Agglutinincurve bis zum 5. Tage keinerlei Veränderung, stieg dann langsam an, um am 9. Tage wieder den Titer von 1:4000 zu erreichen.

Wir sehen also auf den unspezifischen Reiz der Ruhrbakterien hin auch die Typhusagglutinine wieder zunehmen, jedoch nur in mäßigem Grade und in einer Form, die sich kaum unterscheidet von dem Verlauf einer primären Agglutinincurve. Sie ist insbesondere charakterisiert durch ein Latenzstadium, das sogar länger ist als gewöhnlich, und zeigt nicht den unmittelbaren Anstieg am 1. oder 2. Tage, wie ihn Bieling als ein Charakteristikum der anamnestischen Kurve beschrieben hat. Der Vergleich mit der Ruhragglutinincurve ist in dieser Hinsicht besonders lehrreich insofern, als der Verlauf beider Kurven im großen und ganzen der gleiche ist und die „anamnestische“ Kurve (Typhuskurve)

sich von der Kurve des 2. Antigens (Ruhrkurve) ganz gewiß nicht wesentlich unterscheidet. Auffallend ist nur, daß die Injektion von Ruhrbakterien in diesem Falle eine verhältnismäßig schwache Agglutininreaktion zur Folge gehabt hat, und man könnte daran denken und die Frage aufwerfen, inwieweit etwa umgekehrt die vorausgegangene Typhusbehandlung die Wirkung des sekundären Antigens beeinflußt. Es gewinnt bei diesem Versuch fast den Anschein, als reagierte ein mit Typhusbakterien vorbehandeltes Tier auf die Einverleibung von Ruhrbakterien nicht mehr in gleicher Weise mit Agglutininbildung, wie ein normales Tier. Daß dem aber doch nicht so ist, ergibt sich aus dem folgenden Beispiel.

Hier (Fig. 7) zeigt sich, daß das vorbehandelte Tier nach Reinjektion mit Ruhrbakterien beträchtliche Mengen von Ruhr-

Fig. 7.
Kaninchen 27, 1800 g.
Vorbehandlung: Typhus (Str.) 30. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Ruhr Y (B.) 5. III. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.



agglutininen bildet, die dem Serum einen Titer von 1:2000 oder vielleicht noch höher verleihen. Sonst scheint dieser Versuch, der durch frühzeitigen Tod des Tieres am 6. Tage abschloß, etwa die gleichen Verhältnisse zu ergeben, wie der vorige. Die anamnestische Kurve zeigt auch hier erst vom 4.—5. Tage an einen Anstieg zu der früheren Höhe. Eine sofort am 1. Tage erkennbare, am 2. Tage aber wieder verschwundene Zunahme der Agglutinine ist bemerkenswerterweise nicht nur für die anamnestische Typhuskurve, sondern auch für die sekundäre Ruhrkurve zu verzeichnen.

Die folgenden 3 Versuche betreffen den umgekehrten Fall, als die beiden zuletzt besprochenen, nämlich Vorbehandlung mit Ruhrbakterien und Nachbehandlung mit Typhusbazillen. Die 3 Kaninchen, fast genau von der gleichen Größe, genau

mit der gleichen Bakteriendosis geimpft, genau nach der gleichen Zeit, nämlich nach fast 3 Monaten, reinjiziert und auch diesmal wieder genau mit der gleichen Bakterienmenge, lieferten ziemlich ähnliche, aber doch nicht völlig übereinstimmende Resultate.

Wie zunächst aus Fig. 8 hervorgeht, war bei dem ersten Tier infolge der Ruhrimpfung (Y B.) der Agglutinationstiter für Ruhrbakterien bis zu dem Titer von 1:2000 angestiegen, dann aber bis auf 1:100 abgefallen. Die alsdann vorgenommene Nachimpfung mit Typhusbakterien bewirkte an den ersten Tagen geringe Auf- und Abwärtsbewegungen der Ruhragglutinationskurve, dann einen stärkeren Anstieg mit dem Gipfel-

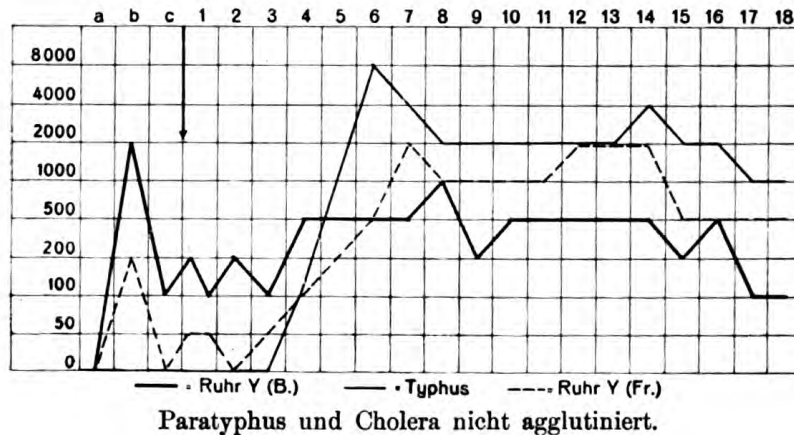
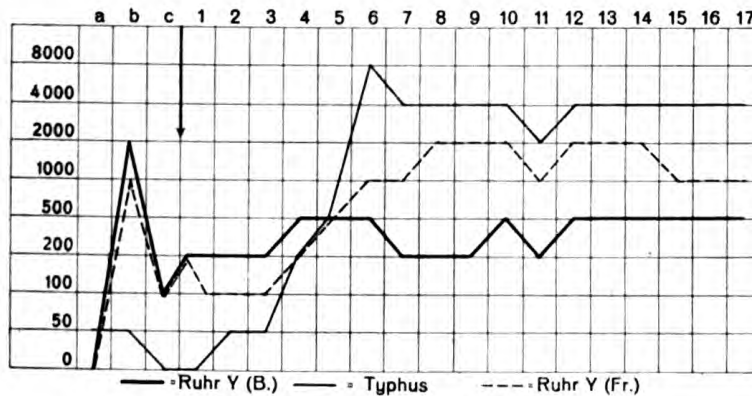


Fig. 8. Kaninchen 42, 2300 g.
 Vorbehandlung: Ruhr Y (B.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
 Nachbehandlung: Typhus (Str.) 23. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

punkt am 8. Tage (1:1000) und weiter anschließend im wesentlichen ein Gleichbleiben des Titers bis zum 16. Tage, wo der Abfall wieder einsetzte. Die Kurve der Typhusagglutination bietet das gewöhnliche Bild: Auftreten von Agglutininen am 4. Tage, steiler Anstieg bis zum Höhepunkt am 6. Tage, Abfall vom 16. Tage an. Die anamnestiche Ruhrkurve unterscheidet sich also auch hier nicht grundsätzlich von der dem 2. Antigen (Typhus) entsprechenden Kurve, denn die kleinen vorübergehenden Erhebungen an den beiden ersten Tagen können kaum als bedeutsam angesprochen werden, und die Wiederzunahme der Agglutinationswirkung eilt jedenfalls der

Typhusagglutination nicht voraus. Im Gegenteil, der Höhepunkt wird erst später erreicht als der der Typhuskurve. Bemerkenswert ist auch der Vergleich mit der Agglutinin-kurve für den Y-Ruhrstamm Fr., also einen Ruhrstamm, der nicht zur Vorbehandlung benutzt worden war, aber, wie früher mehrfach hervorgehoben, durch seine starke Mitagglutination durch Typhusserum ausgezeichnet ist. Hier vereinigt sich also die Wirkung der anamnestischen Reaktion mit der Mitagglutination, und man sieht, daß der Titer des Serums, der für diesen Stamm bei dem mit Y-Ruhr B. vorbehandelten Tiere wieder auf 0 abgesunken war, infolge der Nachbehandlung bis auf 1:2000 anstieg. Trotz der besonders günstigen



Paratyphus und Cholera nicht beeinflußt.

Fig. 9. Kaninchen 41, 2300 g.

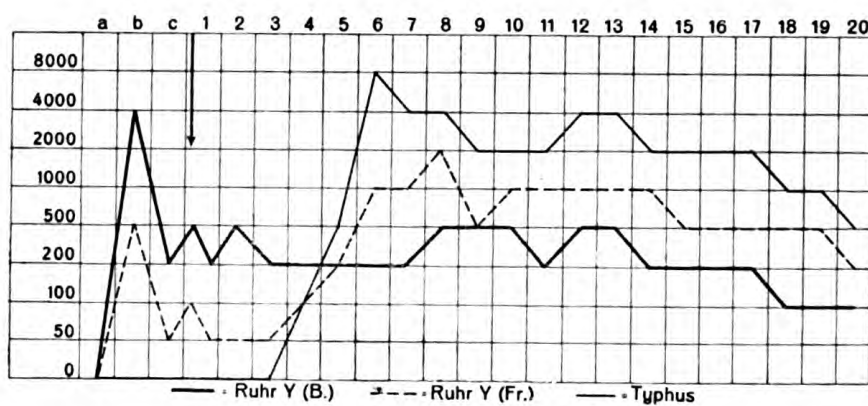
Vorbehandlung: Ruhr Y (B.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Typhus (Str.) 23. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

Umstände, die gerade hier Besonderheiten der anamnestischen Kurve hätten zutage treten lassen müssen, sehen wir, daß von einem beschleunigten Anstieg keine Rede ist. Nur am ersten Tage findet eine geringe Erhebung statt bis auf 1:50, dann wieder Abfall, und der Höhepunkt wird erst am 7. Tage erreicht, später als der der Typhuskurve.

Auch das 2. Tier (Fig. 9) bestätigt im wesentlichen diesen Befund. Eine Andeutung von rascherer Entwicklung der Ruhr-agglutinine als Ausdruck der anamnestischen Reaktion ist zwar vorhanden, aber auch die Typhusagglutinine treten schon etwas früher im Blut auf als gewöhnlich. Die Kurve

des heterologen Ruhrstammes (Y-Ruhr Fr.) verläuft jedoch auch hier so, daß sie in ihrer Entwicklung und ihrem Anstieg bis zum Gipfel der Typhuskurve folgt, nicht ihr vorausseilt.

In dem 3. Falle endlich (Fig. 10) ist die anamnestiche Reaktion für den homologen Ruhrstamm (B.) überhaupt sehr wenig ausgeprägt. 2 kleine Zacken am 1. und 2. Tage, späterhin eine Erhebung vom 8.—13. Tage von dem Ausgangstiter 1:200 auf 1:500 ist alles, was sich konstatieren läßt. Der andere, leicht mitagglutinable Ruhrstamm (Fr.) zeigt scheinbar einen beträchtlichen Wiederanstieg der Agglutinationskurve,



Paratyphus und Cholera nicht agglutiniert.

Fig. 10. Kaninchen 45, 2200 g.
Vorbehandlung: Ruhr Y (B.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Typhus (Str.) 23. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

doch ist hier eben nicht allein eine anamnestiche Reaktion, sondern zugleich auch der Faktor der Mitagglutination in Betracht zu ziehen. Jedenfalls aber hinken beide Ruhrkurven der Typhuskurve nach.

Bei den Besonderheiten, die der Y-Ruhrstamm Fr. aufwies, wurde nun weiterhin absichtlich gerade mit dieser Kultur eine Reihe von Versuchen angestellt. Es war ja denkbar, daß bei Vor- oder Nachbehandlung der Tiere mit einer Kultur, die hinsichtlich der Agglutinierbarkeit sich offenbar von den anderen Ruhrstämmen unterschied, das Auftreten und die Entwicklung der Agglutinine nach einem anderen Typus erfolgen könnte, als in den bisherigen Versuchen.

In Fig. 11 ist zunächst die agglutinierende Serumwirkung eines Tieres dargestellt, das eine einmalige Einspritzung abgetöteter Ruhrbakterien in der üblichen Weise erhalten hatte. Die Kurve zeigt das bekannte Bild, und zwar ziemlich gleichmäßig für alle 3 Ruhrstämme, mit dem einzigen Unterschied, daß der homologe Stamm Fr. bis zu dem Titer von 1:8000, die beiden übrigen Stämme nur 1:2000 bzw. 1:4000 agglutiniert werden. Ungewöhnlich stark ist die Mitagglutination des Typhusstammes, bis 1:1000, während der Y-Stamm B, wie wir sahen (cf. Fig. 4 und 5), nur Ruhragglutinine erzeugt ohne jede Mitagglutination von Typhusbazillen. Umgekehrt

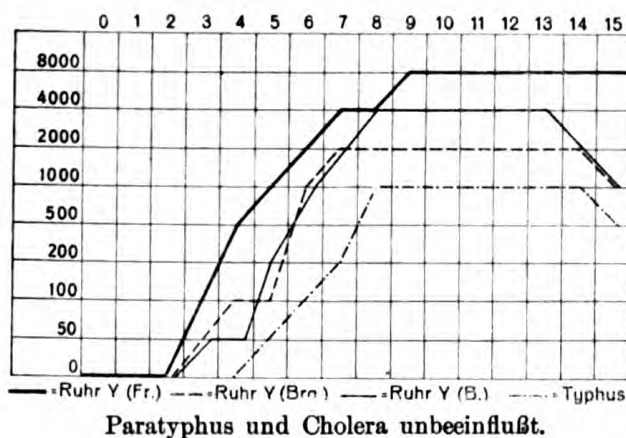


Fig. 11. Kaninchen 39, 2950 g.
Behandlung: Ruhr Y (Fr.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

wird ja auch durch Typhusserum vorzugsweise der Stamm Fr. mitagglutiniert (cf. Fig. 1 und 2). Es besteht also offenbar zwischen unserem Typhusstamm und dem Ruhrstamm Fr. eine weitgehende Rezeptorengemeinschaft. Daneben spielen vielleicht die individuellen Besonderheiten des Versuchstieres eine Rolle, wie der nächste Versuch zeigt.

Hier (Fig. 12) handelt es sich um die Reinjektion von lebenden Ruhrbakterien (Fr.) bei einem Tiere, das auf die 1. Injektion lebender Ruhrbakterien einen Titer von 1:4000 geliefert hatte, dann aber wieder, und zwar nach mehr als 6 Monaten, in seinem Titer auf 1:500 heruntergegangen war. Die sekundäre Ruhrkurve ist, wie gewöhnlich, durch einen höheren Anstieg gekennzeichnet, verläuft sonst aber genau

wie bei einem erstmalig injizierten Tier, d. h. erst vom 4. Tage an läßt sich eine Vermehrung der Agglutinine nachweisen, die bis zum 7. Tage weiterhin zunimmt. Die Typhuskurve, die miteingetragen ist, ist in diesem Falle selbstverständlich durch nichts anderes bedingt, als durch Mitagglutination. Sie erreicht bei weitem nicht die Höhe, wie bei dem vorigen Tier, namentlich nicht im Anschluß an die 1. Injektion, und würde, wenn man von der Eigentümlichkeit des Fr.-Stammes nichts wüßte, ganz den Eindruck einer anamnestischen Reaktion machen.

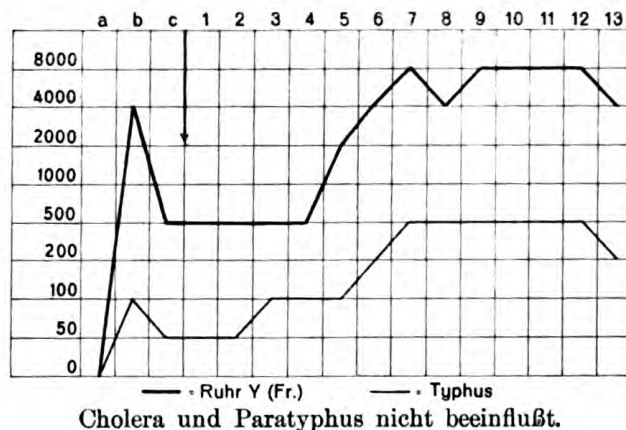


Fig. 12. Kaninchen 3, 2100 g.
 Vorbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 22. V. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.
 Nachbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 3. XII. 1919. $\frac{1}{10}$ Oese, lebend, intravenös.

Die beiden folgenden Tiere wurden zuerst mit Typhus und späterhin mit Ruhr geimpft. Bei dem einen Tier lag zwischen Impfung und Wiederimpfung ein Zeitraum von vier Wochen, bei dem anderen ein solcher von rund 2 Monaten. In dem ersten Fall wurde durch die Typhusimpfung, wie Fig. 13 zeigt, ein Titer von 1:2000 erreicht, der dann wieder auf 1:200 absank und nunmehr durch die Reinjektion mit Ruhrbakterien nur unbedeutend beeinflusst wurde. Verhältnismäßig spät gingen die Typhusagglutinine von 1:200 auf 1:500 hinauf, an einem einzigen Tage bis auf 1:1000, und zeigten weiterhin Schwankungen zwischen 1:200 und 1:500. Wenn man berücksichtigt, welche starke Mitagglutination das Y-Ruhrserum (Fr.) sonst unter Umständen auf Typhusbakterien ausübt, so kann man hier eigentlich kaum von einer anamnesti-

schen Reaktion sprechen, so daß bemerkenswerterweise die Nachimpfung mit Y-Ruhrbakterien des Typus Fr. bei einem mit Typhusbazillen vorbehandelten Tiere überhaupt kein Wiederaufleben der alten Typhusagglutinine bewirkt hat. Eigentümlich ist übrigens auch der Verlauf der Ruhrkurve. Obwohl in dem ersten Stadium des Versuches das Typhusserum des Tieres den Ruhrstamm stark mitagglutiniert hatte, (1:500), bringt die Nachimpfung mit Ruhrbakterien nur einen relativ geringen Agglutinationstiter hervor (1:1000), so daß der schon in einem vorangegangenen Versuch gewonnene Eindruck bestätigt wird, daß unter Umständen die mit einer heterologen Bakterienart vorbehandelten Tiere auf ein neues

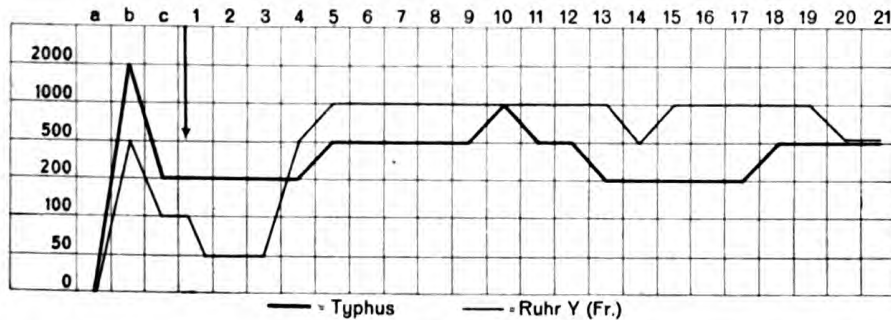


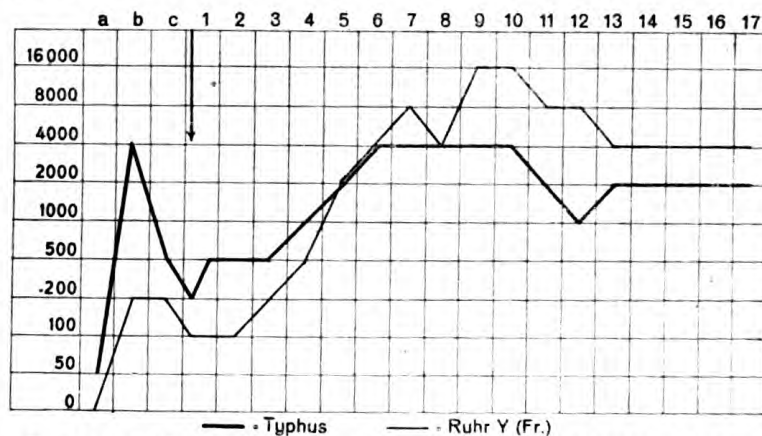
Fig. 13. Kaninchen 12, 1800 g.

Vorbehandlung: Typhus (Str.) 8. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 5. II. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

Antigen nicht mehr in gleicher Weise mit Agglutininproduktion reagieren, wie normale Tiere. Der nächste Versuch lehrt jedoch, daß hier nicht von einem allgemeingültigen Gesetz gesprochen werden kann, sondern daß die Reaktionen von Fall zu Fall wechseln.

Das andere, in ganz ähnlicher Weise behandelte Tier (Fig. 14), liefert bei der Reinjektion mit Ruhrbakterien eine hochansteigende Ruhragglutininkurve, daneben aber auch wieder eine beträchtliche Zunahme der Typhusagglutinine, die nach der primären Impfung mit Typhusbakterien vom Titer 1:4000 inzwischen auf 1:200 abgesunken waren. Die Typhuskurve unterscheidet sich in ihrem Verlaufe von der Ruhrkurve nicht wesentlich, der Anstieg setzt bei beiden ungefähr um die gleiche Zeit ein, erreicht etwa an dem gleichen Tage den Höchststand und fällt ungefähr zur gleichen Zeit

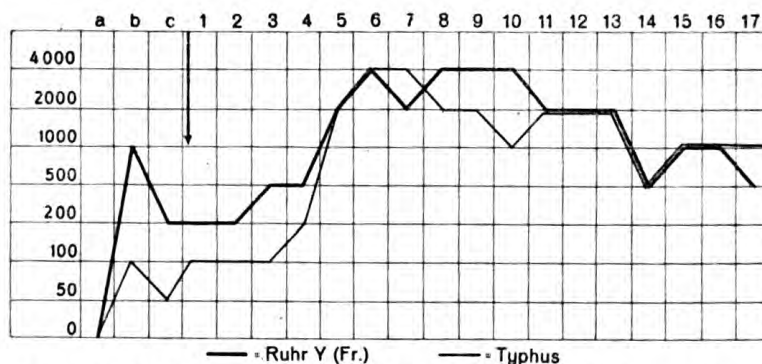
wieder ab. Es ist auch in diesem Falle natürlich nicht zu entscheiden, welcher Anteil der Typhusagglutination auf eine anamnestische Reaktion oder auf einfache Mitagglutination zu beziehen ist.



Paratyphus bis 1:50 mitagglutiniert, Cholera nicht beeinflußt.

Fig. 14. Kaninchen 40, 2200 g.
Vorbehandlung: Typhus (Str.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 3. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

In dem nächsten Versuch (Fig. 15) endlich wurde in umgekehrter Weise verfahren, indem ein mit Ruhrbakterien (Fr.) vorbehandeltes Tier nach 4 Wochen eine Reinjektion von Typhusbakterien erhielt. Die Typhuskurve steigt bis zum



Ruhr Y (B.) kaum beeinflußt, Ruhr Y (Brg.) zeigt, am 5. Tage beginnend, Agglutinationsanstieg von 1:50 auf 1:200. Cholera und Paratyphus unbeeinflusst.

Fig. 15. Kaninchen 17, 1700 g.
Vorbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 9. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Typhus (Str.) 5. II. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

Gipfel von 1:4000, der am 6. Tage erreicht wird, und parallel mit ihr geht auch die Ruhrkurve vom 4.—6. Tage in die Höhe. Schon vorher ist bei beiden Kurven ein leichter Anstieg zu verzeichnen. In diesem Falle kann die starke Wirkung des Serums auf Ruhrbakterien gewiß nicht einfach als Mitagglutination betrachtet werden, wenngleich ja das Typhusserum Ruhrbakterien des Stammes Fr. mitbeeinflusst. Dafür spricht auch das Verhalten des Stammes Y Brg. Wir haben es offenbar zum überwiegenden Teil mit einem Wiederaufleben der schlummernden Ruhragglutinine zu tun, also mit einer eigentlichen anamnestischen Reaktion, wobei aber wiederum bemerkenswert ist, daß sich der Verlauf der anamnestischen Kurve von der Agglutinincurve des sekundären, heterologen Antigens nicht grundsätzlich unterscheidet.

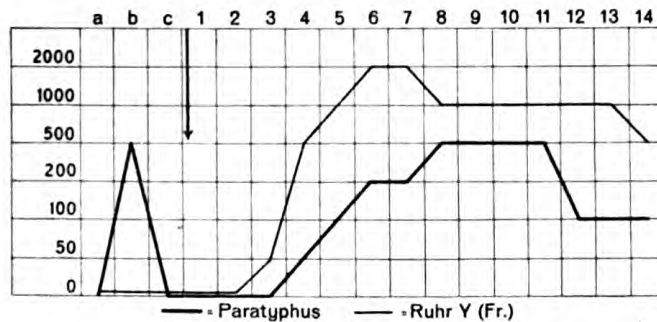


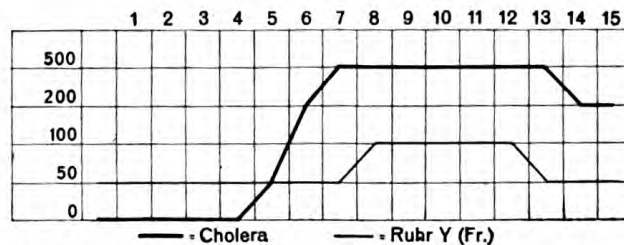
Fig. 16. Kaninchen 30, 1600 g.

Vorbehandlung: Paratyphus (B) 8. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 5. II. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

Die Untersuchungen wurden weiterhin noch auf einige andere Bakterienarten ausgedehnt, und zwar auf Paratyphus- und Cholerabakterien. Diese Bakterienarten wurden speziell auch deshalb herangezogen, weil sich gezeigt hatte, daß hier fast jede Spur einer Mitagglutination fehlt. Es kann schon im voraus bemerkt werden, daß die Resultate im großen und ganzen mit den bisher berichteten übereinstimmen. Zunächst sei ein Beispiel angeführt, das sich bezieht auf den Fall der Vorbehandlung mit Paratyphus B-Bazillen und Nachbehandlung mit Ruhr Y, Stamm Fr. (Fig. 16). Die erste Einspritzung lebender Paratyphusbakterien hatte den Titer des Serums auf 1:500 gebracht, und nach 4 Wochen war diese Wirkung wieder bis auf den letzten Rest verschwunden. Die Nach-

impfung mit dem Y-Stamm Fr. bewirkte eine starke Reaktion sowohl gegenüber Ruhr- als Paratyphusbakterien. Der Agglutinationstiter für Paratyphusbakterien ging vom 3.—8. Tage auf 1:500 in die Höhe, also auf den alten Titer, wie er nach der ersten Einspritzung von Paratyphusbakterien erreicht worden war. Da das Ruhr Fr.-Serum nicht die geringste Mitagglutination auf unseren Paratyphusstamm ausübt (vgl. Fig. 11), so handelt es sich hier unzweifelhaft um eine rein anamnestiche Reaktion. Die Agglutinationskurve dieser Reaktion zeigt bei Vergleich mit der Ruhrkurve, daß, abgesehen von der geringen Höhe, der Anstieg später einsetzt und sich langsamer vollzieht. Die Ruhrkurve steigt vom 2.—6. Tage steil zum Gipfel auf.

In den beiden nächsten Versuchen wurde der Verlauf der Agglutininbildung gegenüber Cholerabakterien sowohl



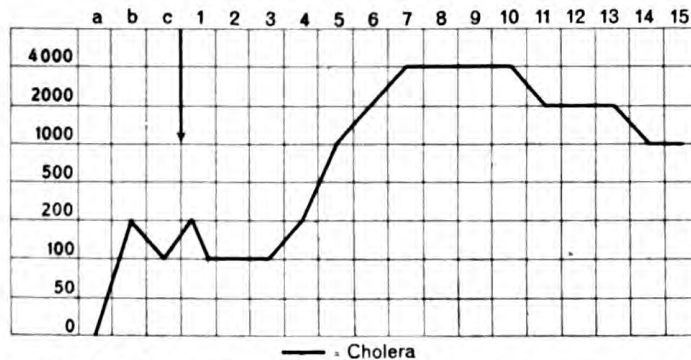
Ruhr Y (B.), Ruhr Y (Brg.), Typhus und Paratyphus nicht agglutiniert.

Fig. 17. Kaninchen 26, 1800 g.

Behandlung: Cholera 30. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

bei einmaliger als bei wiederholter Injektion geprüft. Auffallend ist, daß die durch Choleravibrionen ausgelöste Reaktion im allgemeinen schwächer ausfiel, als bei anderen Bakterienarten. Obwohl die allgemein verwendete Dosis von $\frac{1}{10}$ Oese abgetöteter Kultur auch hier zur Anwendung gelangte, stieg der Titer bei dem einen Tier (Fig. 17) nur auf 1:500, bei dem anderen Tier (Fig. 18) sogar nur auf 1:200. Im übrigen entwickelten sich die Agglutinine ganz nach dem gewöhnlichen Typus vom 4.—7. Tage und erst vom 13. Tage ab machte sich ein Abfall bemerkbar. Eine Mitagglutination war bei Kaninchen 26 (Fig. 17) lediglich für den Y-Ruhrstamm Fr. in geringem Maße zu beobachten, wobei allerdings zu bemerken ist, daß das normale Serum dieses Tieres den Stamm bereits

bis 1:50 beeinflußt hatte. Sonst übte das Choleraserum keines Tieres eine Wirkung auf andere Bakterienarten (Ruhr, Typhus, Paratyphus) aus. Die Reinjektion der gleichen Choleradosis 4 Wochen später hatte, wie Fig. 18 zeigt, eine außerordentlich starke Reaktion zur Folge. Der Titer des Serums, der vorher auf 1:100 abgesunken war, stieg auf 1:4000 in die Höhe, aber ebenfalls erst in der Zeit vom 3.—7. Tage, also ohne jede nennenswerte Verkürzung des Inkubationsstadiums. Ein vorübergehendes Aufschnellen des Titers am 1. Tage von 1:100 auf 1:200 ist für unsere Betrachtungen belanglos. Es zeigt sich somit auch hier eine ganz bedeutend ver-



Bei der Nachbehandlung zeigt nur Typhus eine schwache Mitagglutination (1:50), alle übrigen Stämme, auch Ruhr Y (Fr.), reagieren nicht.

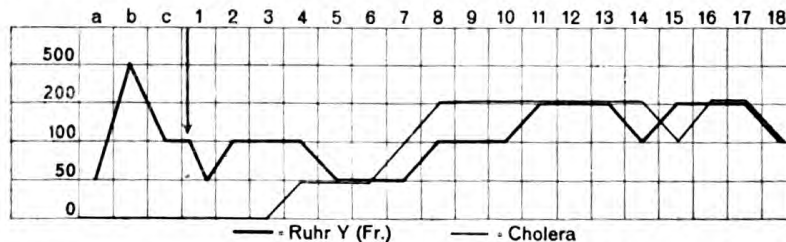
Fig. 18. Kaninchen 28, 2000 g.

Vorbehandlung: Cholera 30. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Cholera 27. II. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

stärkte, wenn auch nicht beschleunigte Wirkung der Reinjektion des gleichen Antigens. Gegen die Deutung und Bewertung dieses Versuchs läßt sich höchstens der Einwand erheben, daß der Agglutiningehalt des Serums im Augenblick der Reinjektion noch nicht vollkommen verschwunden war, sondern immer noch einen Titer von 1:100 aufwies.

Nachdem sich gezeigt hatte, daß die einmalige Injektion von $\frac{1}{10}$ Oese unserer Cholerakultur gewöhnlich nur einen schwachen Agglutinationstiter hervorzurufen vermochte, die Reinjektion dagegen von überraschend starker Wirkung war, mußte es interessant sein zu prüfen, wie sich die Wirkung einer Nachimpfung mit Choleravibrionen äußert bei einem mit

einem anderen Antigen vorbehandelten Tiere. Die Antwort gibt der nächste Versuch (Fig. 19). Hier hatte das Tier zunächst eine Einspritzung von Ruhr Y (Fr.) erhalten und wurde nach ca. 1 Monat mit Choleravibrionen nachgeimpft. Die Choleraagglutination erreichte nur eine Wirkungsgrenze von 1:200 und entwickelte sich in der Zeit vom 3. bis zum 8. Tage. Auf das Verhalten der Ruhragglutinine übte die Cholera-nachimpfung bemerkenswerterweise so gut wie gar keinen Einfluß aus. Die Ruhragglutinine, nach der 1. Ruhrimpfung den Titer von 1:500 erreichend, waren im Augenblick der Nachbehandlung wieder auf 1:100 abgesunken und hielten sich unter Schwankungen zwischen 1:50 und 1:100 bis zum 10. Tage nach der Choleraimpfung auf gleicher Höhe. Erst



Ruhr Y (B.), Ruhr Y (Brg.), Typhus und Paratyphus wurden durch die Nachimpfung nicht beeinflußt.

Fig. 19. Kaninchen 18, 1670 g.

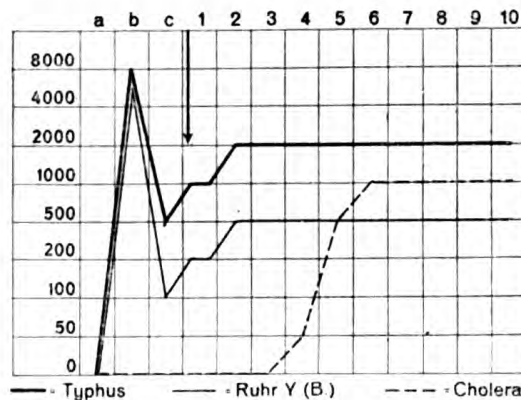
Vorbehandlung: Ruhr Y (Fr.) 9. I. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung: Cholera 5. II. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

dann konnten an einzelnen Tagen Agglutinationswerte von 1:200 erhalten werden, was aber nach früheren Beobachtungen auch auf eine Mitagglutination des Stammes Fr. bezogen werden könnte und jedenfalls so geringfügig ist, daß von einer wirklichen anamnestischen Reaktion gar nicht gesprochen werden kann.

Die bisherigen Versuche, und namentlich die zuletzt besprochenen Ergebnisse mit Choleraimpfungen, legten den Gedanken nahe, daß zur Erzielung einer ausgesprochenen anamnestischen Reaktion die Dosis des Antigens der Nachbehandlung vielleicht sehr stark sein muß. Obwohl wir ja gerade mit Absicht bei unseren Untersuchungen die Impfung der Tiere mit recht geringen Bakterienmengen vorgenommen hatten, wählten wir in einer letzten Versuchsreihe wesentlich

höhere Dosen. Es war denkbar, daß in der Tat ein unspezifischer Reiz erst dann latente Agglutinine wieder manifest werden läßt, wenn dieser Reiz von besonderer Intensität ist. Es sei über 3 Versuche dieser Art berichtet. Sie betreffen Tiere, die zunächst mit Ruhrbakterien und Typhusbakterien behandelt worden waren und nun nach längerer Zeit mit Cholera vibriolen nachgeimpft wurden. Die Cholera-dosis betrug in allen Fällen 1 Oese, also das 10-fache der früher verwendeten Bakterienmenge. Zwei Tiere hatten, bei fast gleichem Körpergewicht, die gleiche Vorbehandlung erfahren. Sie waren zunächst mit Ruhr Y (B.), dann nach ca. 3 Monaten mit Typhus geimpft worden und wurden nach weiteren 5 Monaten mit Cholera infiziert. Das dritte Tier

Fig. 20.
Kaninchen 45, 2200 g.
Vorbehandlung:
a) Ruhr Y (B.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
b) Typhus 23. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.
Nachbehandlung:
Cholera 16. XI. 1920. 1 Oese, abgetötet, intravenös.



hatte umgekehrt erst eine Einspritzung von Typhusbakterien, dann nach 2 Monaten eine solche von Ruhrbakterien (Stamm Fr.) erhalten; die Nachimpfung mit Cholera erfolgte hierauf $5\frac{1}{2}$ Monate später.

Die Resultate dieser Versuchsreihe sind ungleichmäßig. Zunächst zeigt uns das 1. Tier (Kaninchen 45, Fig. 20) einen Verlauf der 3 Agglutinincurven in einer charakteristischen Form, wie wir sie bei keinem der früheren Versuche beobachtet hatten. Die Choleraagglutinine treten zuerst vom 3. zum 4. Tage im Serum des Tieres auf, erreichen am 6. Tage den höchsten Grad von Wirksamkeit (1:1000) und bleiben weiterhin auf der Höhe; also der gewöhnliche Verlauf. Demgegenüber besitzen die beiden anamnestischen Kurven, die Ruhrkurve und die Typhuskurve ein ganz anderes Gepräge.

Schon am 1. Tage und weiterhin am 2. Tage nahm die Agglutinationswirkung zu, und zwar bei Typhus von 1:500 auf 1:2000, bei Ruhr von 1:100 auf 1:500 und war damit an dem Höhepunkt angelangt. Der Titer für Typhus- und Ruhrbakterien hielt sich dann bis zum Ende des Versuchs (10. Tag) auf der gleichen Höhe. Wir haben in diesem Falle ein Beispiel, das der von Bieling gegebenen Charakteristik der anamnestischen Kurve entspricht: Der Anstieg der beiden anamnestischen Kurven setzt unmittelbar im Anschluß an die Nachbehandlung ein und erreicht wesentlich früher als bei der dem Antigen

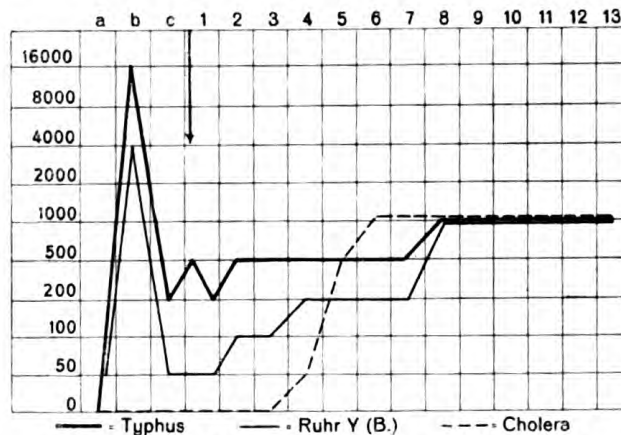


Fig. 21. Kaninchen 42, 2300 g.

Vorbehandlung: a) Ruhr Y (B.) 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

b) Typhus 23. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

Nachbehandlung: Cholera 16. XI. 1920. 1 Oese, abgetötet, intravenös.

der letzten Impfung entsprechenden Kurve den Gipfel. Daß aber in dieser Beziehung nicht von einem gesetzmäßigen Verhalten gesprochen werden kann, zeigt der nächste Versuch (Fig. 21).

Obwohl Kaninchen 42 genau die gleiche Behandlung erfahren hatte wie Kaninchen 45, treten die charakteristischen Eigentümlichkeiten und Unterschiede der Kurven keineswegs mit solcher Deutlichkeit hervor, wie in dem vorhergehenden Falle. Die Kurve der Choleraagglutinine weist in ihrem Verlauf eine geradezu verblüffende Uebereinstimmung auf mit der des oben besprochenen Versuches. Dagegen sind die anamnestischen Kurven der Ruhr- und Typhusagglutinine

untereinander verschieden und stimmen auch mit den entsprechenden Kurven von Kaninchen 45 (Fig. 20) keineswegs überein. Zwar ist bei der Typhuskurve schon bald nach der Choleranachimpfung ein leichter Anstieg zu verzeichnen, ein weiterer Anstieg bis zu dem Höhepunkt folgt aber erst in der Zeit vom 7.—8. Tage. Auch die Ruhrkurve erhebt sich schon etwas früher als die Cholerakurve, jedoch langsam und stufenweise, und erst am 8. Tage, d. h. zu der gleichen Zeit wie die Typhuskurve, erreicht sie ihren Gipfel. Beide anamnестischen Kurven (Typhus und Ruhr) beginnen also mit

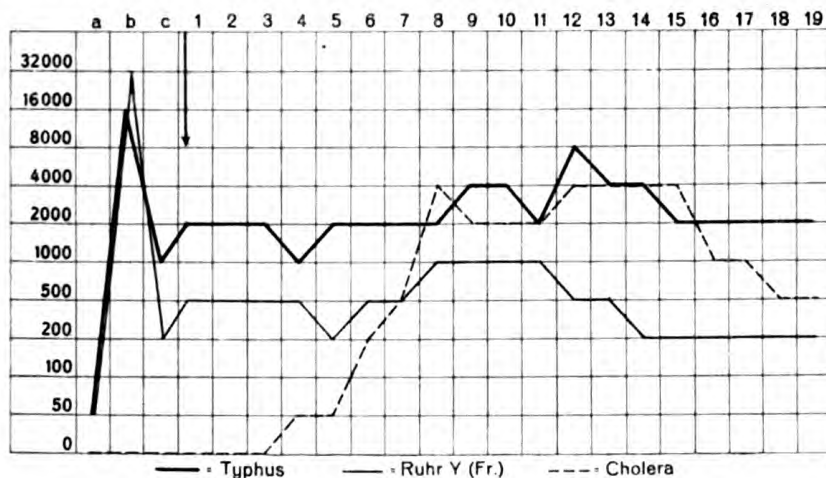


Fig. 22. Kaninchen 40. 2200 g.

Vorbehandlung: a) Typhus 1. IV. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

b) Ruhr Y (Fr.) 3. VI. 1920. $\frac{1}{10}$ Oese, abgetötet, intravenös.

Nachbehandlung: Cholera 16. XI. 1920. 1 Oese, abgetötet, intravenös.

dem Anstieg früher als die Cholerakurve, der Anstieg vollzieht sich aber viel weniger steil, so daß Typhus- und Ruhragglutinine zur Titergrenze später gelangen als die Choleraagglutinine.

Ein letzter Versuch (Fig. 22) steht mit seinen Resultaten etwa in der Mitte zwischen den beiden eben besprochenen und gibt damit wieder ein anderes Bild. Die Cholerakurve steigt zu beträchtlicher Höhe an (1:4000), die am 8. Tage erreicht und bis zum 15. Tage mit geringen Schwankungen gehalten wird. Die beiden anamnестischen Kurven verlaufen einander ziemlich ähnlich. Auch hier, wie in Versuch 20, in unmittelbarem Anschluß an die Nachimpfung, eine geringe

Steigerung, dann aber wieder Abfall und nun ein zweiter und eigentlich erst in das Gewicht fallender Anstieg bis zur Höchstgrenze von 1:1000 für die Ruhragglutinine und 1:8000 für die Typhusagglutinine. Die Gipfelpunkte der anamnestischen Kurven liegen hinter dem Gipfel der Cholerakurve (Typhus) oder fallen mit ihm zusammen (Ruhr Fr.). Obwohl also auch hier eine Andeutung einer beschleunigten anamnestischen Reaktion vorhanden ist, folgt andererseits doch wieder der maßgebende Anstieg dem der Kurve des Antigens der Schlußbehandlung, und vor allen Dingen ist auffallend, daß bei einer so starken Reaktion, wie sie durch den Agglutinationstiter für Choleravibrionen gekennzeichnet ist, das Wiederaufleben der alten Agglutinine sich innerhalb relativ bescheidener Grenzen hält.

Schlußbetrachtungen.

Wenn wir die Gesamtheit unserer Ergebnisse, wie wir sie an der Hand der Kurven erläutert haben, noch einmal zusammenfassen, so führt uns dies zu folgenden Schlußbetrachtungen:

Normale Kaninchen, denen eine der von uns geprüften Bakterienarten einverleibt wird, sei es in lebendem oder abgetötetem Zustande, reagieren mit der Bildung von Agglutininen in einer Weise, wie sie den in der Literatur niedergelegten Angaben entspricht. Nach einem Inkubationsstadium von 3—4 Tagen lassen sich in der Regel zum erstenmal Agglutinine im Blutserum des Tieres nachweisen, die dann rasch eine weitere Zunahme erfahren. Die Agglutinincurve geht steil in die Höhe und pflegt um den 6.—8. Tag die Titergrenze zu erreichen. Wie lange das Serum seinen Titer hält, ist von individuellen Eigentümlichkeiten der Versuchstiere abhängig, man kann aber im allgemeinen feststellen, daß das Serum 10, 14, auch 20 Tage lang unverminderte Agglutinationswirkung aufweist. Erst dann sinkt der Titer allmählich wieder ab. Es dauert jedoch unter Umständen sehr lange Zeit, bis die einmal erzeugten Agglutinine wieder bis auf die letzte Spur verschwunden sind. Eine Abnahme des Titors von 1:4000, 1:8000 und darüber auf 1:500, 1:200 und selbst 1:100 haben wir wiederholt erreichen können, ein völliges Verschwinden der Agglutinine aber nur in ganz vereinzelten Fällen. Be-

merkwürdig ist dabei, daß die Zeit an sich offenbar nicht so sehr von Bedeutung ist, als die individuelle Besonderheit des Versuchstieres. So haben wir mitunter selbst nach 5 und 6 Monaten immer noch einen Agglutinationstiter von 1:200 feststellen können, in anderen Fällen war ein gleiches Absinken schon nach viel kürzerer Zeit (4—6 Wochen) eingetreten und unter Umständen sogar die Agglutinationskraft so gut wie vollständig erloschen (vgl. Fig. 5, 16).

In diesem eigentümlichen Verhalten lag für unsere Versuche eine gewisse Schwierigkeit, insofern als es uns ja eigentlich darauf ankam, eine Reinjektion bei vorbehandelten, also immunisierten Tieren möglichst erst dann vorzunehmen, wenn das Serum mit gänzlichem Verlust der Agglutinationswirkung scheinbar seine normale Beschaffenheit wiedererlangt hatte. Der gleiche Umstand ist es auch, der gegen die Mehrzahl anderer wissenschaftlicher Veröffentlichungen zu Einwendungen Veranlassung gibt, weil eben die Reinjektion meist zu einem zu frühen Zeitpunkt vorgenommen worden ist.

Wird ein mit einer beliebigen Bakterienart vorbehandeltes Tier nach gewisser Zeit, und zwar nach Absinken seines Agglutinationstiters, von neuem mit der gleichen Bakterienart nachgeimpft, so ist diese Reinjektion von einer wesentlich stärkeren Reaktion gefolgt (vgl. Fig. 3, 5, 18). Unsere Ergebnisse stimmen in dieser Hinsicht durchaus überein mit den Erfahrungen anderer Autoren, insbesondere mit den Angaben von Cole, v. Liebermann und Acél, Conradi, Biebling u. a., sie stimmen mit ihnen aber auch darin überein, daß es uns in keinem einzigen Falle gelungen ist, eine beschleunigte Antikörperbildung zu konstatieren. Das Inkubationsstadium war genau wie bei erstmalig geimpften Tieren stets vorhanden, es war auch von gleicher Dauer und die Entwicklung der Agglutinine vollzog sich durchaus nach demselben Schema. Die gesteigerte Reaktionsfähigkeit, die ein Tier durch die immunisierende Vorbehandlung erwirbt, gelangt nach unseren Beobachtungen also einzig und allein in der Form zum Ausdruck, daß der Organismus auf eine erneute Einverleibung desselben Virus erheblich größere Mengen von Antikörpern (Agglutininen) liefert. Worauf es zurückzuführen ist, daß eine stärkere Reaktion sich

nicht auch durch ein beschleunigtes Auftreten von Agglutininen kundgibt, bleibe zunächst unerörtert. Es wäre ja denkbar, daß ein Teil der Antikörper anfänglich durch die neu eingespritzten Bakterien gebunden und damit dem Nachweis entzogen wird. Mit anderen Worten, bei der Reinjektion werden die Agglutinine vielleicht rascher gebildet als bei einem normalen, erstmalig injizierten Tier, ihr Nachweis gelingt aber in dem ersten Stadium noch nicht.

Der Kurventypus ist somit bei homologer Reinjektion ganz der gleiche wie bei der Erstimpfung normaler Tiere: Anstieg am 3.-4. Tage, Erreichung des Höhepunktes am 6.-8. Tage, Verweilen auf gleicher Höhe 1-2 Wochen, späterhin beginnender Abfall. Gerade auf die letztere Tatsache möchte ich noch besonders hinweisen insofern, als es nach unseren Beobachtungen scheint, daß die durch die Reinjektion der gleichen Bakterienart bewirkte Neuerzeugung von Agglutininen keinen wesentlich längeren Bestand hat, als die primär hervorgerufene Agglutinationskraft des Serums. Unsere Versuche sind zwar nicht immer so lange ausgedehnt worden, um den endgültigen Ablauf der zweiten Agglutinincurve beobachten zu können, immerhin aber zeigen eine Reihe von Kurven, daß der hohe Titer, der durch die Reinjektion vielfach erreicht wird, auch nach relativ kurzer Zeit wieder abzusinken beginnt (vgl. Fig. 3, 12, 18).

Es wurde in unseren Versuchen zur 1. und 2. Impfung absichtlich eine kleine Bakteriendosis gewählt. Ich habe zwar nicht, wie Cole, die geringste überhaupt noch reaktionsauslösend wirkende Bakterienmenge ausgeprüft, sondern mich darauf beschränkt, möglichst geringe Bakterienmengen zu injizieren, die andererseits aber doch ausreichten, um bei normalen Tieren mehr oder minder kräftige Antikörperbildung anzuregen. Man könnte daran denken, daß bei Vornahme der Wiederimpfung mit recht großen Bakterienmengen der Verlauf der sekundären Agglutinincurve vielleicht geändert würde. Wir haben dies absichtlich nicht getan, weil damit einmal etwas ungewöhnliche Versuchsbedingungen gesetzt worden wären und weil es uns ferner ja gerade darauf ankam, die Wirkung der gleichen, kleinen Dosis bei normalen Tieren und bei vorbehandelten Tieren zu prüfen.

Der andere Teil unserer Untersuchungen, bei denen die vorbehandelten Tiere nicht mit der gleichen, sondern mit einer anderen Bakterienart infiziert wurden, hat zu dem Ergebnis geführt, daß die Frage der Mitagglutination sorgfältiger Berücksichtigung bedarf. Typhus- und Ruhrstämmen, mit denen wir gearbeitet haben und die auch von anderen Autoren zu ihren Untersuchungen herangezogen worden sind, können unter Umständen durch das heterologe Serum wechselseitig mitagglutiniert werden. Insbesondere hat einer unserer Ruhrstämmen (Ruhr Y Fr.) dieses Phänomen in ausgesprochener Weise gezeigt; sein Serum übte auf unseren Typhusstamm eine starke Mitagglutination aus, und umgekehrt wurde er durch Typhusserum leicht und stark beeinflusst. Diesen Verhältnissen ist, wie uns scheint, nicht immer genügend Rechnung getragen worden. Es kann vorkommen, daß z. B. bei Erstinjektion eines Tieres mit Ruhrbakterien und Nachinjektion mit Typhusbakterien nun im Anschluß an diese letztere Impfung mit der Kurve der Typhusagglutinine auch die der Ruhragglutinine wieder stark in die Höhe geht. Man hat also zunächst den Eindruck einer anamnestischen Reaktion und doch handelt es sich möglicherweise um nichts anderes, als um eine einfache Mitagglutination, wie sich daraus ergeben würde, daß auch normale Tiere, die in gleicher Weise nur mit Typhusbakterien geimpft werden, eine vorgetäuschte „anamnestische“ Ruhrkurve liefern (vgl. Fig. 1, 2, 3, 11, 12). Ehe man sich also nicht über die Frage der Mitagglutination bei den zur Verwendung gelangenden Bakterienarten und Bakterienstämmen durch Kontrollexperimente vergewissert hat, ist das Untersuchungsergebnis nur unter Vorbehalt zu deuten.

Was nun die Wirkung einer heterologen Reinfektion anbelangt, so konnte in einer Reihe von Fällen eine deutliche Reaktivierung der verschwundenen oder stark verminderten Agglutinine nicht nachgewiesen werden. Es ergibt sich schon hieraus die wichtige Tatsache, daß der unspezifische Reiz, wie er durch eine fremde Bakterienart ausgeübt wird, unter sonst gleichen Bedingungen wesentlich unsicherer und schwächer wirkt hinsichtlich Erweckung schlummernder Agglutinine als die Neuinjektion der gleichen Bakterienart.

Immerhin ließ sich bei einer Anzahl von Tieren die Tatsache der anamnesticen Reaktion bestätigen (vgl. Fig. 6, 7, 8, 16, 20 u. a.). Es wird also in diesem Falle die stark abgesunkene Agglutinationskraft des Serums durch Nachimpfung des Tieres mit einer heterogenen Bakterienart wieder neu belebt. Zum Teil kann diese sekundäre Agglutinationskurve eine beträchtliche Höhe erreichen, was freilich nur vereinzelt beobachtet wurde. Im übrigen aber hat sich ein besonderer, der anamnesticen Kurve eigentümlicher Verlauf, der sie etwa von der durch das homologe Antigen hervorgerufenen Kurve unterscheiden ließe, aus unseren Beobachtungen nicht ergeben. Insbesondere wurde bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung, die sich zur 2. Impfung der gleichen Bakteriendosis bediente wie bei der Erstimpfung, das Inkubationsstadium genau wie bei einer primären Kurve beobachtet. Eine Abkürzung war nicht festzustellen, vielmehr meist umgekehrt eine Verlängerung. Daraus ergibt sich, daß im allgemeinen die anamnestiche Kurve, ganz wie in den Versuchen von Conradi und Bieling, der Agglutinincurve des sekundären (heterologen) Antigens **folgt**. Zwar machte sich hin und wieder sehr bald nach der 2. Injektion, schon im Verlauf des 1. Tages oder auch am 2. Tage, ein kurzer Anstieg der anamnesticen Kurve bemerkbar, jedoch so unbedeutend und so vorübergehend und so unregelmäßig, daß daraus kaum besondere Schlüsse gezogen werden können. Dies um so weniger, als ähnliche Kurvenzacken auch unter anderen Bedingungen gelegentlich beobachtet wurden. Es kann also nicht gesagt werden, daß, im Sinne der späteren Auffassung Bielings, die anamnestiche Kurve allgemein und grundsätzlich verschieden ist von der Agglutinincurve, die dem Antigen der Nachbehandlung entspricht. Sie zeigt in der Regel keinen plötzlichen und unvermittelten Anstieg der Agglutinine, sie ist aber auch, wie hinzugefügt sei, in ihrem weiteren Verlauf von ähnlichem Charakter, wie jede andere primäre oder sekundäre Agglutinincurve.

Umgekehrt hatte es in einzelnen Fällen den Anschein, als würde die Agglutinincurve des sekundären Antigens durch die Wirkung des primären Antigens beeinflusst (Fig. 13). In

anderen Fällen fand sich dies aber nicht bestätigt, so daß wir hier zunächst auch nur ein zufälliges Zusammentreffen annehmen möchten.

Einen veränderten Verlauf der anamnestischen Reaktion schien die Erhöhung der Dosis des Antigens der Nachbehandlung zu bewirken. Wenigstens lieferte in einem ersten Versuche ein Tier, das eine Einspritzung von Ruhrbazillen und Typhusbazillen erhalten hatte und daraufhin mit einer ganzen Oese Cholerakultur — statt wie sonst $\frac{1}{10}$ Oese — nachgeimpft wurde, eine Ruhr- und eine Typhus-agglutinincurve, die in ihrem Verlauf ungewöhnlich waren. Die anamnestischen Agglutinine traten ohne Inkubationsstadium sofort auf, nahmen rasch zu und wiesen den Höchstwert schon am 2. Tage auf, zu einer Zeit, als die Choleraagglutinine, d. h. die Antikörper des Antigens der Schlußbehandlung noch in der Entwicklung waren. In diesem Falle stimmten also die beiden anamnestischen Kurven mit dem Bild überein, das Bieling als typisch bezeichnet. Man hätte hiernach in der Tat vielleicht annehmen können, daß es zur Auslösung einer anamnestischen Reaktion von charakteristischem Gepräge eines möglichst intensiven unspezifischen Reizes in Form großer Bakterienmengen bedarf, wenn nicht 2 andere Versuche unter nahezu gleichen oder zum mindesten sehr ähnlichen Bedingungen wieder ein abweichendes Resultat ergeben hätten. Bei diesen Tieren war die anamnestische Reaktion teils überhaupt wenig ausgesprochen, teils dem sonst von uns beobachteten Verlauf so sehr angenähert, daß ihr ein eigenartiger Charakter kaum zugesprochen werden konnte. Es will uns hiernach scheinen, als ob auch größere Bakterien Dosen nicht imstande sind, das Wiederaufleben latenter Antikörper in grundsätzlich anderer Weise zu bewirken, als kleine Bakterienmengen. Vielmehr macht es den Eindruck, als ob die beschleunigte, ohne Latenzstadium sich vollziehende Neuentstehung von Agglutininen eine Erscheinung ist, die mehr von der Individualität des Versuchstieres abhängt, als von der Art der Vorbehandlung.

Wir haben eingangs darauf hingewiesen, welche Bedeutung die vorliegende Frage, d. h. die Neubildung von Antikörpern (Agglutininen) bei immunisierten Tieren für die Auffassung der Immunitätsvorgänge und speziell für die Erklärung der

30*

Immunität bei gewissen Infektionskrankheiten besitzt. So würde die Tatsache, daß die Typhusimmunität des Menschen auch nach dem völligen Verschwinden der spezifischen Antikörper aus dem Blute noch lange Jahre fortbestehen kann, trotzdem mit der Antikörpertheorie der Typhusimmunität in Einklang zu bringen sein, wenn sich nachweisen ließe, daß der immune Organismus immer noch eine verstärkte spezifische Reaktionsfähigkeit bewahrt und imstande ist, bei einer Neuinfektion sofort und in besonders reichem Maße spezifische Antikörper zu produzieren. Dieser Ansicht, die, wie wir sahen, vielfach vertreten wird, haben unsere Untersuchungsergebnisse keine Stütze zu geben vermocht. Es hat sich nur zeigen lassen, daß immunisierte Tiere auf eine Reinjektion im allgemeinen mit verstärkter Antikörperbildung (Agglutininbildung) reagierten. Dabei ist freilich auch zu berücksichtigen, daß in dem Augenblick der Reinfektion der Antikörpergehalt des Blutes gewöhnlich nicht wieder ganz zur Norm abgesunken war, sondern immer noch eine gewisse Erhöhung aufwies. Aber auch unter diesen Bedingungen konnten wir immer nur eine verstärkte, nicht eine beschleunigte Antikörperbildung feststellen. Wir möchten nicht so weit gehen, in diesen Beobachtungen nun direkt einen Gegenbeweis gegen die Bedeutung der Antikörper für die Typhus- oder Ruhrimmunität zu erblicken. Schon deshalb nicht, weil ja auch eine verstärkte Produktion dieser Stoffe dem Organismus einen verstärkten Schutz gewährt. Ebenso nötigt, wie wir glauben, die Tatsache der anamnestischen Reaktion zu einer vorsichtigen Stellungnahme. Es ließ sich zwar nicht erweisen, daß durch einen unspezifischen bakteriellen Reiz schlummernde Antikörper besonders rasch und reichlich wieder zum Vorschein gebracht werden können; aber allein die Feststellung, daß überhaupt der Organismus die erlernte Fähigkeit, Antikörper zu produzieren, auch dann noch besitzt, wenn der geringe Antikörpergehalt oder selbst die Antikörperfreiheit des Blutes dieses nicht mehr vermuten lassen, ist jedenfalls ein bedeutsames Phänomen.

Zusammenfassung.

1) Kaninchen, die eine einmalige Einspritzung einer kleinen Dosis lebender oder abgetöteter Typhus-, Ruhr-, Para-

typhus- und Cholerabakterien erhalten, reagieren mit der Bildung von Agglutininen in der bekannten Weise. Die Agglutinine treten etwa am 3. Tage im Blute auf und vermehren sich weiterhin, um am 6. bis 8. Tage den Höhepunkt zu erreichen. Nach ca. 14 Tagen beginnt die Agglutinationskraft des Serums wieder abzunehmen, doch kann es viele Monate dauern, ehe die Agglutinine bis auf den letzten Rest verschwunden sind.

2) Wird ein Kaninchen nach Ablauf der 1. Reaktion und Verschwinden bzw. starker Abnahme der Agglutinine seines Blutes von neuem mit der gleichen Bakterienart und gleicher Dosis infiziert, so kommt es zu einer erneuten, meist verstärkten Agglutininbildung. Die Agglutinincurve zeigt im übrigen aber ganz den gleichen Verlauf wie die Curve eines erstmalig geimpften Tieres. Das Inkubationsstadium ist unverändert, eine beschleunigte Antikörperbildung tritt nicht ein.

3) Wird ein mit einer der von uns geprüften Bakterienarten vorbehandeltes Kaninchen nach längerer Zeit (Ablauf der Reaktion) mit einer heterologen Bakterienart nachgeimpft, so werden Agglutinine gegen das erste und gegen das zweite Antigen gebildet. Die Agglutininproduktion gegen das zweite Antigen (Antigen der Nachbehandlung) tritt regelmäßig ein und verläuft wie bei normalen Tieren. Gegen das erste Antigen werden ebenfalls häufig, wenn auch nicht regelmäßig, Antikörper gebildet. Diese durch unspezifischen Reiz bedingte „anamnestische Reaktion“ liefert eine Agglutinincurve, die den gewöhnlichen Charakter der Antikörperkurven zu besitzen pflegt.

4) Die anamnestische Curve zeigt also in der Regel auch ein Inkubationsstadium von mehreren Tagen, geht langsam in die Höhe und fällt, nachdem sie längere Zeit auf der Höhe geblieben ist, allmählich wieder ab. In Uebereinstimmung mit Conradi und Bieling folgt nach unseren Beobachtungen die anamnestische Curve in ihrer Entwicklung der Curve des sekundären Antigens.

5) Nur ausnahmsweise wurde ein anderer Typus der anamnestischen Curve wahrgenommen: schneller Anstieg, ohne Latenzstadium, in fast unmittelbarem Anschluß an die Nachimpfung. Ein besonders starker und spezifischer Reiz (hohe Bakteriendosis bei der Nachimpfung) schien dies zu begünstigen, doch waren auch hier die Resultate ungleichmäßig.

6) Soweit unsere Versuche es gestatten, zu der Antikörpertheorie der Immunität (Typhusimmunität, Ruhrimmunität) Stellung zu nehmen, bieten sie keinen Anhalt dafür, daß der immunisierte Organismus auch nach Verschwinden der spezifischen Serumstoffe die Fähigkeit erworben hat, diese Stoffe bei neuerfolgender Infektion mit besonderer Beschleunigung zu produzieren. Die Antikörperbildung erfolgt anscheinend nur in verstärktem Maße.

Immerhin weist die Tatsache der anamnestischen Reaktion auf eine veränderte und gesteigerte Reaktionsfähigkeit des Immuntieres hin.

Literatur.

- Bessau, Deutsche med. Wochenschr., 1916.
 Bieling, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, 1919.
 Braun, Münch. med. Wochenschr., 1918.
 Brieger und Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, 1893.
 Bulloch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, 1901.
 Cole, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, 1904.
 Conradi und Bieling, Deutsche med. Wochenschr., 1916.
 Dawson, Brit. med. Journ., 1915.
 Dieudonné, Habil.-Schrift München, 1898.
 Dreyer and Inman, Lancet, 1917.
 Dreyer and Walker, Journ. of Pathol. and Bacteriol., Bd. 14, 1910.
 — — Lancet, 1917.
 v. Dungern, Die Antikörper. Jena, G. Fischer, 1903.
 Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1900.
 Fleckseder, Wiener klin. Wochenschr., 1916.
 Friedberger und Mita, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.
 Goldschmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 91, 1920.
 Joergensen, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 1905.
 Joergensen und Madsen, Festschr. d. staatl. Seruminst. Kopenhagen, 1902.
 v. Liebermann und Acél, Deutsche med. Wochenschr., 1918.
 Liess, Münch. med. Wochenschr., 1918.
 Morgenroth, Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 1899.
 Reiss, Münch. med. Wochenschr., 1915.
 Salomonsen et Madsen, Ann. Pasteur, 1897, 1898, 1899.
 Schäfer, Münch. med. Wochenschr., 1919.
 Schürer und Goldschmidt, Berl. klin. Wochenschr., 1920.
 Schütze und Scheller, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 1901.
 Stäubli, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 1904.
 Verney, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 1902.
 Zinsser und Kathe, Med. Klinik, 1916.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Zur Frage der Hitzebeständigkeit der gebundenen Antikörper.

Von **Arthur Lange.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. März 1921.)

Im Jahre 1907 hat E. Friedberger¹⁾ die merkwürdige Tatsache beobachtet, daß spezifische Präzipitate wenigstens bis zu 14 Wochen fäulnisresistent sind²⁾. Da ein besonderes Verhalten der Fäulnisbakterien in den Präzipitataufschwemmungen dafür nicht verantwortlich gemacht werden konnte, so wurde angenommen, daß das mit dem Präzipitin verankerte Eiweißmolekül den von den Bakterien gebildeten, die Fäulnis bedingenden Fermenten keinen Angriffspunkt mehr bietet. Sei es nun, daß der Eiweißkomplex eine derartige molekulare Umlagerung erfahren hat, daß er nicht mehr durch die Fermente des Bakteriums zerlegbar ist, sei es auch nur, daß diejenige Gruppe des Eiweißmoleküls, in welche das Ferment gewöhnlich eingreift, nunmehr durch das Präzipitin verstopft ist.

Für letztere Annahme bestanden bereits Analoga in der Chemie und in der Immunitätslehre. So führen z. B. L. Schwarz die Resistenz des formalinisierten Eiweißes, Pick und Joachim³⁾ die der Präzipitate gegenüber der tryptischen und peptischen Verdauung darauf zurück, daß die Gruppe des Eiweißmoleküls in die für gewöhnlich das Ferment eingreift, hier durch das Formaldehyd bzw. das Präzipitin besetzt ist.

1) E. Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 43, 1907, p. 490.

2) Diese Fäulnisresistenz erstreckt sich, wie wir jetzt wissen, auf wenigstens über 12 Jahre, denn Präzipitate, die Herr Professor Friedberger im Juni 1908 durch Zusammenwirkung von Antikaninchenserum einer Ziege und Kanincheneiweiß dargestellt hat, sind ohne jegliche aseptische Kautelen in unserem Laboratorium aufbewahrt noch heute geruchlos.

3) E. Pick und J. Joachim, Wiener med. Wochenschr., 1903, p. 1399—1403.

Die Richtigkeit dieser Vorstellung vorausgesetzt, mußte es durch Zerstörung des verankerten Präzipitins gelingen, den Niederschlag faulfähig zu machen.

Jedoch erwiesen sich gekochte*Präzipitate in gleicher Weise resistent gegenüber der Fäulnis wie ungekochte. Danach mußte die voraufgehend erörterte Vorstellung falsch sein oder Präzipitine, deren relative Thermolabilität von Kraus und Pirquet¹⁾ festgestellt war, mußten durch die Verankerung an das Antigen hitzebeständiger werden, wie ja auch Eisenberg die Hitzebeständigkeit getrockneter Präzipitine nachgewiesen hat.

Bald darauf haben Friedberger und Pinczower²⁾ in eigens darauf gerichteten Versuchen mittels Agglutininen die Frage der Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen Antikörper zum Gegenstand einer besonderen Untersuchung gemacht. Sie zeigten, daß mit Agglutininen völlig beladene Typhusbakterien auch nach $\frac{1}{4}$ Stunde langem Erhitzen auf 100° einem homologen Immunserum nicht wiederum Agglutinin entziehen.

Das war nur unter der Annahme verständlich, daß die einmal an die Bakterien gebundenen Agglutinine im Gegensatz zu den freien im Serum in ähnlicher Weise hitzebeständig geworden sind, wie das Eisenberg für die getrockneten Antikörper gezeigt hat.

Drei Jahre später unterzog Bessau³⁾ in einer gleichfalls aus dem Pfeifferschen Institut hervorgegangenen Arbeit die Versuche von Friedberger und Pinczower einer Nachprüfung und kam zu einem diametral entgegengesetzten Ergebnis.

Schon durch kurz dauernde Erhitzung auf 80° sah er eine Zerstörung des homologen gebundenen Antikörpers.

Angesichts dieses Widerspruchs hat Kumagai⁴⁾ die Versuche von Friedberger und Pinczower nochmals nachgeprüft. Er weist darauf hin, daß die Mehrzahl der Versuche von Bessau für die ganzen Fragen belanglos sind, weil sie nicht mit Agglutininen, sondern mit Bakteriolysinen angestellt sind, bei denen neben der haptophoren, auch den Agglutininen eigenen Funktion noch die komplementophile eine Rolle spielt.

1) Kraus und Pirquet, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 32, 1902, p. 60.

2) E. Friedberger und Pinczower, Ueber die Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen Antikörper (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 45, 1908, p. 352).

3) G. Bessau, Zur Frage der Hitzebeständigkeit der gebundenen Antikörper (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 60, 1911, p. 363).

4) Kumagai, Zur Frage der Hitzebeständigkeit der gebundenen Antikörper (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, p. 269).

Auch die Versuche Bessaus über die Antigenqualität der völlig beladenen gekochten Bakterien im Gegensatz zu den beladenen ungekochten können hier aus ähnlichen Gründen als Beweismaterial nicht herangezogen werden, wie das Kumagai a. a. O. ausführlich auseinandergesetzt hat. Was nun die mit den von Friedberger und Pinczower allein vergleichbaren Versuche anlangt, so waren auch sie nach Kumagai nicht einwandfrei.

Die Bakterien waren, wie Kumagai nachgewiesen hat, nur ungenügend beladen (Bessau, Tabelle VI). Die Differenzen zwischen sensibilisierten erhitzten und nicht sensibilisierten erhitzten Bakterien waren ferner so geringfügig, daß sie als innerhalb der Versuchsfehlergrenzen liegend zu betrachten sind.

In seinen eigenen Versuchen konnte Kumagai zunächst die Angabe von Bessau, wonach erhitzte Bakterien schlechter Agglutinine binden als frische, nicht bestätigen. Es zeigte sich vielmehr das Verhalten im selben Sinne, wie es früher Scheller¹⁾, sowie Friedberger aus dem gleichen Institut festgestellt hatten, nämlich ein zum mindesten gleich starkes Bindungsvermögen der gekochten Bakterien.

Weiterhin lieferten Kumagais Versuche eine Bestätigung der Ergebnisse von Friedberger und Pinczower.

Neuerdings sucht nun Bessau²⁾ den Unterschied zwischen seinen und Friedbergers Ergebnissen auf ein verschiedenes Verhalten der von beiden Autoren benutzten Typhusstämmen zurückzuführen. Der 1911 von Bessau benutzte Stamm „Bock“ werde durch Kochen in seinem Agglutininbindungsvermögen „schwer geschädigt“, während der von Kumagai benutzte Stamm „Gießen“ in Bestätigung von Friedberger und Pinczower, sowie Kumagai und die von Scheller untersuchten Stämme ihr Bindungsvermögen beim Erhitzen bewahren.

Weiter gibt Bessau an, in Versuchen mit dem Stamm „Gießen“, deren Anordnung genau der von Kumagai entsprach, nach dem Erhitzen der völlig abgesättigten Bakterien ein Wiederauftreten der Agglutininbindungsfähigkeit gesehen zu haben.

Den Widerspruch mit den Ergebnissen Kumagais erklärt Bessau durch Fehler in der Versuchstechnik Kumagais; er vermutet, daß dieser nicht genug Sorgfalt auf das Verteilen der beladenen gekochten Bakterien in dem Immunserum gelegt habe, worauf das abweichende Ergebnis Kumagais zurückzuführen sei.

Auf Veranlassung von Herrn Professor Friedberger und unter seiner Leitung habe ich erneut nunmehr an einer großen Anzahl von Typhusstämmen

1) R. Scheller, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. Die Agglutinine der Typhusimmunsera und ihre Beziehungen zur agglutinogenen Typhusbazillenleibessubstanz (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 36, 1904, p. 694).

2) Bessau, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 83, 1919, p. 344.

1) die Frage nachgeprüft, ob tatsächlich, wie Bessau angibt, so wesentliche Unterschiede im Antigen der Typhusbazillen gegenüber dem Kochen bestehen, daß durch die Temperatur von 100° einmal das Agglutininbindungsvermögen schwer geschädigt wird (Bessau, Stamm „Bock“), das andere Mal völlig erhalten bleibt (Friedberger und Pinczower, Kumagai-Stamm „Gießen“) oder sogar noch etwas erhöht wird (Scheller).

2) Wurden mit den gleichen und weiteren Typhusstämmen die Versuche von Friedberger und Pinczower wiederholt. Es standen uns 10 erneut auf ihre Identität durchgeprüfte Typhusstämmen der Greifswalder Sammlung, die sämtlich aus Stuhl, Urin oder Blut Typhuskranker im Untersuchungsamt des Instituts gezüchtet worden waren, zur Verfügung, ferner auch der früher benutzte Stamm „Gießen“ und der Bessausche Stamm „Bock“, der anderweitig dem Institut freundlichst überlassen worden war.

Besonders achteten wir bei allen Versuchen noch einmal ausdrücklich darauf, daß die beladenen und gekochten Bakterien aufs sorgfältigste verrieben wurden, weil Bessau in dieser Richtung bei Kumagai eine Fehlerquelle, allerdings wohl zu Unrecht, vermutete. Der Autor beherrschte die einschlägige Technik vollkommen. Auf solche elementare Dinge war natürlich auch bei den früheren Arbeiten unseres Instituts geachtet worden.

Zunächst prüften wir nun also, ob Typhusstämmen durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Erhitzen auf 100° im Gegensatz zu Scheller, Friedberger-Pinczower, Kumagai in ihrem Agglutininbindungsvermögen schwer geschädigt werden, wie es Bessau bei dem Stamm „Bock“ gefunden hatte.

Nach den neueren Untersuchungen von Weil und Felix wissen wir zwar, daß speziell bei den X-Stämmen thermostabile neben thermolabilen Rezeptoren vorkommen, doch sind die Differenzen selbst bei den X-Stämmen nicht so eklatant, um die auffallenden Befunde Bessaus gerade mit dem Stamm „Bock“ gegenüber anderen zu erklären, und bei Typhus ist überhaupt eine derartige regelmäßige Verteilung im Rezeptorenapparat wie bei X-Stämmen noch nicht beobachtet worden.

Doch haben wir es gerade mit Rücksicht darauf besonders begrüßt, daß uns die Stämme „Gießen“ und „Bock“ neben den anderen zur Verfügung standen, und wir haben uns wegen dieser neuen Befunde auch entschlossen, die Versuche noch auf die O- und H-Form des Bazillus X 19 auszudehnen.

Wir lassen nun zunächst die Agglutinationsversuche mit erhitzten und unerhitzten Typhus- und X 19-Stämmen folgen.

Wir beginnen mit vergleichenden Versuchen über die Stämme „Gießen“ und „Bock“.

Sechs 24-stündige Schrägagarkulturen vom Stamm „Gießen“ werden in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch ein grobes Papierfilter gegossen.

Das Filtrat wird in zwei gleiche Teile geteilt, der eine Teil im Wasserbad bei $100^{\circ} \frac{1}{4}$ Stunde erhitzt. Darauf werden beide Teile scharf zentrifugiert, die abzentrifugierten Bakterien mit 5 ccm Typhusimmunserum 1:100 versetzt und 2 Stunden im Brutschrank bei 37° unter häufigem Umschütteln gehalten.

Ferner werden sechs gleich stark gewachsene 24-stündige Schrägagarkulturen vom Stamm „Bock“ in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und genau so behandelt wie Stamm „Gießen“.

Zu den Abgüssen, die mit gekochten und nicht gekochten „Gießen“ und „Bock“ 2 Stunden in Kontakt waren, wird neue Kultur vom Stamm „Gießen“ resp. „Bock“ hinzugesetzt.

Tabelle I.

Agglutination durch Immunserum vorbehandelt mit	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$	$\frac{1}{12800}$	$\frac{1}{25600}$	NaCl
gekochtem „Gießen“	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nicht gekochtem „Gießen“	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
gekochtem „Bock“	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
nicht gekochtem „Bock“	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
unvorbehandel- versetzt mit „Gießen“	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
tes Serum versetzt mit „Bock“	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Derselbe Versuch wird noch einmal wiederholt, nur daß diesmal zu den Abgüssen, die mit gekochten und ungekochten „Gießen“ in Kontakt waren, neue Kultur vom Stamm „Bock“ hinzugefügt wird und umgekehrt zu den Abgüssen, die mit gekochtem und ungekochtem „Bock“ in Kontakt waren, neue Kultur vom Stamm „Gießen“.

Tabelle II.

[illegible]

Diese Versuche zeigen in Uebereinstimmung mit Friedberger und Pinczower, Kumagai und Bessau, daß der Stamm „Gießen“ durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Kochen in seinem Agglutininbindungsvermögen nicht geschädigt wird.

Aber im Gegensatz zu Bessau konnten wir feststellen, daß auch der Stamm „Bock“ durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Erhitzen auf 100° in seinem Bindungsvermögen keineswegs, wie Bessau angibt, „schwer geschädigt wird“, wenn auch dieser Stamm, auf 100° erhitzt, allerdings etwas schlechter bindet als nicht gekocht.

Auch bei den 11 übrigen Stämmen haben wir derartig beträchtliche Unterschiede, wie sie Bessau zwischen „Bock“ und „Gießen“ im Gegensatz zu unseren Befunden gesehen hat, nicht beobachtet.

Diese Versuche wurden in analoger Weise angestellt wie die mit „Gießen“ und „Bock“.

Es wurden von jedem Stamm zwei 24-stündige Schrägagarkulturen in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, dann in 2 Portionen geteilt, die eine $\frac{1}{4}$ Stunde im kochenden Wasserbade erhitzt, die andere unerhitzt gelassen.

Darauf wurden beide Teile zentrifugiert und mit je 5 ccm Typhus-immunserum in der Verdünnung 1:100 2 Stunden in Kontakt gelassen. Das durch Zentrifugieren von den Bakterien befreite Serum wurde in fallenden Verdünnungen mit frischer Kultur desselben Stammes versetzt und 2 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten.

Nach dieser Zeit wurde das Ergebnis abgelesen (siehe Tabelle III).

Tabelle III.

Agglutination durch Immuns Serum		Typh.- Stamm	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600	1/51200	NaCl
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	2051	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	6452	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	897	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	15	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	43	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	3089	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	3416	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	3076	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	1719	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
a) vorbehandelt	mit gekochten Bakt.	36	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt	mit ungekochten Bakt.		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Aus diesen Versuchen ergibt sich folgendes:

4 Stämme (6452, 897, 43, 1719) verhalten sich in ihrem Bindungsvermögen gekocht und ungekocht vollkommen gleich wie Stamm „Gießen“,

4 andere Stämme (2051, 3416, 3076, 36) binden gekocht etwas schlechter als ungekocht ähnlich dem Stamm „Bock“,

2 Stämme (15, 3089) verhalten sich, wie es Scheller gefunden, sie binden gekocht etwas besser als ungekocht.

Die Differenzen sind aber in jedem Fall gering und gehen nicht weiter als eine Verdünnung.

Analoge Versuche wurden noch mit dem Proteusstamm Weil-Felix angestellt, und zwar mit den beiden von diesem Stamm bekannten Formen, mit der H-Form und der O-Form.

1 Agarplatte mit 24-stündiger Kultur der H-Form wird in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Aufschwemmung in zwei gleiche Teile geteilt. Die eine Quote wird in kochendem Wasserbade $\frac{1}{4}$ Stunde erhitzt. Dann werden beide Teile zentrifugiert, die Bakterien mit je 5 ccm Kaninchenimmenserum in der Verdünnung 1:20 versetzt und 2 Stunden unter häufigem Umschütteln bei 37° in Kontakt gelassen.

Dann wird zentrifugiert und der Abguß in fallenden Verdünnungen mit neuer Kultur derselben Form versetzt. Nach 2 Stunden im Brutschrank wird das Resultat abgelesen.

Derselbe Versuch wird in derselben Anordnung mit der O-Form angestellt.

Tabelle IV.

Agglutination durch Immenserum		Proteus-form	1/90	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	NaCl
a) vorbehandelt	{ mit gekochten Bakt. mit ungekochten Bakt.	H-Form	±	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	±	—
a) vorbehandelt	{ mit gekochten Bakt. mit ungekochten Bakt.	O-Form	—	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	—	—

Diese Versuche zeigen, daß auch die beiden Formen des Proteusstammes Weil-Felix durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Erhitzen im kochenden Wasserbade in ihrer Agglutininbindungsfähigkeit nicht wesentlich verändert werden; der gekochte Teil bindet ebenso wie der ungekochte¹⁾.

Wir sehen also, daß von den untersuchten 14 Stämmen keiner durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Kochen in seinem Agglutininbindungsvermögen merklich geschädigt wird.

1) Diese Ergebnisse stehen zunächst scheinbar im Widerspruch zu den wohlfundierten, allgemein bestätigten Angaben von F. Schiff (Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 41) sowie Sachs (Deutsche med. Wochenschr., 1918, No. 17), wonach die O-Rezeptoren der Bakterien bedeutend hitzebeständiger sind als die H-Rezeptoren. Daß dieser Unterschied bei uns weniger hervortritt (nur in dem stärkeren Bindungsvermögen der ungekochten H-Form), dürfte wohl auf die Versuchsanordnung zurückzuführen sein, vor allen Dingen auf die starken Serumkonzentrationen, mit denen die Ausfällung bewirkt wurde. Von einer Differenzierung der Agglutination in „grob“ und „fein“ wurde bei diesen Versuchen abgesehen.

Nachdem festgestellt war, daß zwischen den untersuchten 12 Typhusstämmen auch zwischen den beiden Proteusformen ein nennenswerter Unterschied im Bindungsvermögen zwischen erhitzten und unerhitzten nicht bestand, haben wir nunmehr mit sämtlichen Stämmen die Versuche von Friedberger und Pinczower, Kumagai und Bessau wiederholt. Diese Versuche waren nämlich seither überhaupt nur mit den beiden Stämmen „Gießen“ und „Bock“ angestellt. Es erschien uns aber wichtig, sie auf eine große Zahl von Stämmen auszu-dehnen, um dadurch vielleicht die Differenzen zwischen Bessaus und unseren eigenen Befunden zu erklären.

Bei diesen Versuchen haben wir den größten Wert darauf gelegt, so wie es schon früher auch Friedberger und seine Mitarbeiter getan haben, daß die Beladung der Bak-terien vor der Erhitzung wirklich eine vollstän-dige war. Das ist aber keineswegs einfach und es bedarf einer immer wiederholten Beladung, um sicher alle haptophoren Gruppen der Bakterien zu besetzen. Wissen wir doch aus den älteren Untersuchungen von Pfeiffer und Fried-berger, wie außerordentlich groß die Zahl der Rezeptoren am Bakterienleib offenbar ist und wieviel mehr Antikörper gebunden werden können, als zur Bakteriolyse oder Aggluti-nation an sich ausreichend sind. Die völlige Absättigung aller Gruppen aber scheint uns notwendig, um einwand-freie Resultate zu erzielen, denn sonst können natürlich nach dem Kochen an die unbesetzt gebliebenen thermostabilen Rezeptoren ohne weiteres Antikörper verankert werden, und es kann dadurch eine Zerstörung der gebundenen Antikörper vorgetäuscht werden.

Es war eine 9—11malige Ausfällung und Aus-schleuderung notwendig, um die Bakterien völlig abzusättigen.

Wir lassen zunächst die Versuche mit dem Stamm „Gießen“ und „Bock“ folgen.

Zwei 24-stündige Schrägagarkulturen vom Stamme „Gießen“ wurden in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch ein grobes Papierfilter filtriert. Darauf wurde zentrifugiert und die Bakterien völlig mit Agglutinin abgesättigt, indem sie zusammengebracht wurden 4mal mit 10 ccm Immunserum (Titerhöhe 1:12600) in der Verdünnung 1:100, 2mal mit 10 ccm Immunserum 1:50 und noch 3mal mit 10 ccm

1:100. Jedesmal wurden die Bakterien möglichst fein verteilt. Erst bei den beiden letzten Abgüssen ergab sich die völlige Absättigung.

Dann wurden die Bakterien noch 2mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, in 10 cem Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in zwei Portionen geteilt.

Die eine Portion wurde im Wasserbade $\frac{1}{4}$ Stunde gekocht, die andere ungekocht gelassen.

Dann wurden beide Teile zentrifugiert und die zentrifugierten Bakterien mit je 5 cem Immunserum 1:100 aufgeschwemmt. Die gekochten und ungekochten beladenen Bakterien verteilten wir jedesmal möglichst sorgfältig, so daß eine gleichmäßig trübe Aufschwemmung vorhanden war.

Nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank, unter häufigem Umschütteln, wurde wieder zentrifugiert und die Abgüsse in fallenden Verdünnungen mit frischer Kultur desselben Stammes versetzt. Nach weiteren 2 Stunden bei 37° lasen wir das Resultat ab.

Nach derselben Versuchsanordnung wurde der Stamm „Bock“ geprüft.

Tabelle V.

Agglutination durch Immunserum		Typhus- stamm	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600	NaCl	
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. mit beladenen } ungekocht. Bakt.	„Gießen“	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
			+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. mit beladenen } ungekocht. Bakt.	„Bock“	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
			+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—

Derselbe Versuch wurde dann nach genau derselben Versuchsanordnung mit den 10 anderen Typhusstämmen angestellt.

Als Immunserum wurde für die Stämme „Bock“, „Gießen“, 897, 1687, 6452, 43, 3089 das Serum eines Antityphuskaninchens No. 483 des Instituts benutzt, während die letzten 5 Stämme (15, 36, 1719, 3076, 2051) mit dem Immunserum vom Tier 492 behandelt wurden (siehe Tabelle VI).

Das Ergebnis der vorstehenden Versuche mit den 12 Typhusstämmen ist ein vollkommen eindeutiges und stimmt mit den Befunden von Friedberger und Pinczower sowie Kumagai genau überein. Das an die Bakterien gebundene Agglutinin erweist sich bei genügender Bindung als hitzebeständig. Bei einigen Stämmen „Gießen“, 6452, 15, 3076 und 43 haben allerdings die gekochten Bakterien eine

Tabelle VI.

Agglutination durch Immunsrum		Typh.- Stamm	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600	1/51200	NaCl
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	897	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	1687	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	6452	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	43	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	3089	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	15	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	36	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	1719	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	3076	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
a) vorbehandelt	{ gekochten Bakt. ungekochten Bakt.	2051	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—

Spur mehr entzogen, indem das eine Mal in der Endverdünnung die Agglutination +, das andere Mal ± war. Doch liegen diese geringen Differenzen sicher innerhalb der Versuchsfehlergrenzen. Denn bei Stamm 1687 und 36 haben wir gerade das umgekehrte Verhalten. Dazu kommt noch, daß z. B. Stamm 15 an sich schon gekocht etwas stärker band als ungekocht.

Bereits Kumagai hatte bei seinen Untersuchungen mit dem einen Stamm „Gießen“ gefunden, daß die erhitzten beladenen Bakterien immer noch geringe Mengen von Agglutinin

entziehen, denn das native Serum wirkt an sich stärker agglutinierend, als der Abguß von den gekochten beladenen Bakterien. Er führt das darauf zurück, daß bei der Prozedur des Waschens und Kochens vielleicht ein Teil der gebundenen Agglutinine wieder abspaltet.

Bei unseren Untersuchungen mit zahlreichen Stämmen erwiesen sich aber diese Differenzen als so gering und außerdem nicht gleichsinnig, daß wir nicht einmal diese Erklärung Kumagais auf Grund der Untersuchungen an einem einzigen Stamm als unbedingt zu Recht bestehend bezeichnen möchten.

Jedenfalls haben wir die Tatsache, daß die mit Agglutinin völlig beladenen, dann gekochten Bakterien kein Agglutinin mehr entziehen, während Bessau eine quantitative völlige Wiederbindungsfähigkeit nach dem Kochen und damit totale Zerstörung des gebundenen Agglutinins annimmt.

Um auch das Verhalten anderer Bakterienarten in dieser Richtung zu untersuchen, haben wir dann noch entsprechende Versuche mit der O- und H-Form des X 19 Weil-Felix angestellt.

Je eine Agarplatte mit 24-stündiger Kultur der beiden Formen wurde mit 8 ccm physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmt und zentrifugiert. Die Bakterien wurden mit Agglutinin völlig gesättigt, indem sie zusammengebracht wurden 3mal mit 8 ccm Immunserum 1:40 und 7mal mit 8 ccm Immunserum 1:20.

Darauf wurde 2mal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und in 2 gleiche Teile geteilt. Denn einen Teil kochten wir im Wasserbade $\frac{1}{4}$ Stunde, den anderen ließen wir ungekocht. Dann wurde zentrifugiert und die Bakterien in je 5 ccm Immunserum 1:20 aufgeschwemmt und 2 Stunden unter häufigem Schütteln im Brutschrank gelassen. Auch hierbei achteten wir genau darauf, daß die gekochten und ungekochten Bakterien im Immunserum möglichst fein verteilt wurden, was bei dem Proteusstamm schwerer zu erreichen war als bei den Typhusstämmen. Nach 2 Stunden wurde abermals zentrifugiert und der Abguß in fallenden Verdünnungen mit frischer Kultur derselben Form versetzt.

Das Resultat lasen wir nach 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank ab und fanden es nach 24 Stunden durch Absetzen der Bakterien in den positiven Reagenzgläsern bestätigt.

Tabelle VII.

Agglutination durch Immunsrum		Proteus- form	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	NaCl
a) vorbehandelt mit beladenen	gekochten Bakterien ungekochten Bakt.	H-Form	+	+	+	+	+	+	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	±	—
a) vorbehandelt mit beladenen	gekochten Bakterien ungekochten Bakt.	O-Form	+	+	+	+	±	—	—	—
b) unvorbehandelt			+	+	+	+	+	+	±	—

Auch das Resultat dieser Versuche stimmt vollkommen mit dem bei den Typhusstämmen gefundenen überein. Die beladene H-Form entzieht im gekochten und ungekochten Zustand dem Immunsrum kein Agglutinin mehr, während der gekochte Teil der O-Form nur noch eine Spur entzieht.

Diese geringe Differenz im Verhalten zwischen O und H mag mit der verschiedenen Thermoresistenz der Rezeptoren zusammenhängen. Der Unterschied zwischen gekochter und ungekochter O-Form aber liegt wohl innerhalb der Versuchsfehlergrenzen.

Das Ergebnis unserer Arbeit ist also das folgende:

1) $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 100° beraubt die Typhusbakterien nicht der Bindungsfähigkeit für Agglutinin.

2) Die mit Agglutinin völlig gesättigten Bakterien entziehen nach dem Erhitzen dem Serum kein Agglutinin mehr.

Es fragt sich nun, wie sind mit diesen Befunden die nach beider Richtung hin abweichenden von Bessau zu erklären. Speziell bezüglich des Stammes „Gießen“ hat dieser Autor ja die Thermoresistenz der Rezeptoren bestätigt, aber erneut darauf hingewiesen, daß bei ihm der Stamm „Bock“ in seinem Agglutinin-Bindungsvermögen durch das Erhitzen schwer geschädigt werde. Davon kann nun keine Rede sein. Der Stamm „Bock“ bindet zwar nach dem Kochen etwas schlechter, und ebenso verhalten sich die Stämme 3076, 36 und in geringem Grade 3416. Aber dieser Unterschied ist doch sehr unerheblich.

„Große Unterschiede“ (Bessau) zwischen verschiedenen Typhusstämmen obwalten nach unseren Untersuchungen an 12 Stämmen jedenfalls nicht, und wir können Bessau darin

nicht beipflichten, daß „dieser Differenzpunkt mit Friedberger befriedigend geklärt“ ist.

Noch schwieriger gestaltete es sich zunächst, in der zweiten Frage eine befriedigende Erklärung für die Unterschiede zu finden.

Bisher waren die Versuche, die zu so abweichenden Ergebnissen geführt haben, mit nur je 1 bzw. 2 Typhusstämmen ausgeführt worden. Nachdem ich aber mit 12 verschiedenen Typhusstämmen und einem anderen Bakterium die gleichen Resultate wie Friedberger und Kumagai früher mit einem Typhusstamm erhalten habe, einerlei, ob ein Typhusstamm gekocht etwas mehr oder weniger Agglutinin bindet als ungekocht, muß ich trotz der entgegenstehenden Befunde von Bessau mit dem Stamm „Gießen“ und „Bock“ daran festhalten, daß mit Immunserum völlig beladene gekochte Bakterien dem Serum kein Agglutinin mehr entziehen.

Bemerkenswert ist es nun in diesem Zusammenhang, daß Bessau tatsächlich in seiner ersten 1911 erschienenen Arbeit mit dem Stamm „Bock“ zu von Friedberger und seinen Schülern gar nicht so erheblich abweichenden Resultaten gekommen ist, wie es seine damaligen Schlußfolgerungen und seine späteren Arbeiten erscheinen lassen. In jener Arbeit geht die Agglutination des Immunserums, das mit dem beladenen ungekochten „Bock“ in Kontakt war, nur eine Stufe weiter als in dem Serum, das mit den beladenen gekochten Bakterien zusammen war. Es hat also hier der beladene gekochte „Bock“ keine nennenswerten Mengen Agglutinin entzogen. Da aber Bessau annahm, daß der native „Bock“ durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Erhitzen auf 100° in seinem Agglutininbindungsvermögen schwer geschädigt wird, legt er sein Versuchsergebnis ganz anders aus.

Nachdem wir nun aber festgestellt haben, daß durch das Kochen des Stammes „Bock“ sein Agglutininbindungsvermögen keineswegs eine erhebliche Schädigung erleidet, sind wir wohl berechtigt, den Versuch Bessaus durchaus in unserem Sinne zu deuten und seine damaligen wie die jetzigen Schlußfolgerungen zurückzuweisen.

Mit Recht weist Bessau darauf hin, daß „hier nicht ein

mit Friedberger und seinen Mitarbeitern übereinstimmendes Resultat vorliegt, das nur verschiedener Deutung zugänglich wäre“, sondern daß „die Versuchsergebnisse in eklatanter Weise differieren“. „Bei dieser Differenz ist es unabweislich, daß auf der einen Seite ein Versuchsfehler oder eine irgendwie nicht einwandfreie Technik vorliegt“ (Bessau, a. a. O.).

Bessau ist geneigt, die „nicht einwandfreie Technik“ in den Arbeiten Friedbergers und seiner Schüler zu vermuten, und denkt daran, daß wir, vor allem Kumagai, die beladenen gekochten Bakterien im Immunserum mangelhaft verteilt hätten. Das war aber wohl nicht der Fall, und ich habe in meinen Versuchen noch besonders darauf geachtet.

Es fragt sich nur noch, können wir unsererseits eine Erklärung für das so völlig abweichende Verhalten bei einer an sich doch nicht sehr schwierigen und klaren Versuchsanordnung geben?

Wenn wir daraufhin die Protokolle der vorliegenden Arbeiten durchsehen, so fällt es auf, daß in den Arbeiten aus unserem Institut die Beladung bis zur völligen Absättigung offenbar eine viel intensivere war, als bei den anderen Autoren. Bei Friedberger und Pinczowsers kurzen Arbeit fehlen genaue Angaben, doch ist ausdrücklich hervorgehoben, daß die Bakterien bis zur vollständigen Beladung wiederholt mit Immunserum in Kontakt waren. Bessau hat zu diesem Zweck in seiner ersten Arbeit 3—4mal, in der zweiten 3- bzw. 6mal die Bakterien mit dem Serum je eine Stunde in Kontakt gelassen. Kumagai hat 7-, 8- bzw. 11mal beladen, ich selbst 9- und 10mal hintereinander, wobei Serum und Bakterien mindestens 1—2 Stunden unter wiederholtem Aufschütteln in Berührung blieben. Es dauerte bei uns etwa 6—7mal, bis die Bakterien nach der an sich ja rohen Versuchsanordnung annähernd ganz abgesättigt erschienen, aber auch dann haben wir noch einige Male ausgefällt. Erst dadurch war es wohl möglich, die Bakterien mit Sicherheit völlig zu beladen.

Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß auch erst bei dieser wiederholten und langdauernden Beladung jene Verfestigung des Agglutinins eingetreten ist, die zur Irreversibilität und

zur Hitzebeständigkeit führt. Hierfür haben wir auch Analogien im Verhalten der Toxine zu den Antitoxinen.

Zusammenfassung.

1) Verschiedene Typhusstämme binden nach dem Erhitzen auf 100° Agglutinine quantitativ annähernd in gleicher Weise wie unerhitzt, und zwar in der Mehrzahl der Fälle gleich gut, in anderen etwas besser, in anderen etwas weniger. Wesentliche Unterschiede, wie sie Bessau zwischen den Typhusstämmen „Gießen“ und „Bock“ angegeben hat, konnten wir bei keinem der von uns untersuchten Stämme, insbesondere auch nicht bei den Originalstämmen „Gießen“ und „Bock“ feststellen.

2) An die Bakterien gebundene Agglutinine sind nach unseren Untersuchungen mit 14 verschiedenen Stämmen, darunter 12 Typhusstämmen, in Uebereinstimmung mit Friedberger und Pinczower sowie Kumagai und im Gegensatz zu Bessau, sofern die Bindung und Verfestigung eine vollständige ist, hitzebeständig. Als Ursache für die Differenz wird eine ungenügende Verfestigung der Antigen-Antikörperverbindung bei den Versuchen Bessaus angenommen.

Nachtrag bei der Korrektur.

In einer soeben im Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 86, Heft 3, erschienenen Arbeit kommt Spät zu einem mit Bessau übereinstimmendem und den Versuchen von Friedberger und Pinczower, Kumagai sowie meinen eigenen entgegengesetzten Ergebnis. Er hat seine Versuche mit komplementbindenden Antikörpern und Normalagglutininen angestellt. Bezüglich der Komplementbindungsversuche gilt zunächst das, was Kumagai schon gegenüber den bakteriolytischen Versuchen Bessaus betont hat, daß nämlich hier im Gegensatz zu Agglutination neben der haptophoren Gruppe noch die vielleicht empfindlichere zytophile interveniert. Allerdings glaubt Spät durch seine Versuche auch die Thermolabilität der haptophoren Gruppe des komplementbindenden Antikörpers gezeigt zu haben.

Wenn man die Versuchsprotokolle Späts durchsieht, so fällt auf, daß er 1mal, höchstens 2mal bis zu $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° sensibilisiert hat, und wenn er auch unter diesen Bedingungen einmal bei neuem Zusatz des Immunserums keine weitere Antikörperadsorption gesehen hat, so lassen sich doch diese Versuche bezüglich der Dauer und des Grades der Absättigung nicht mit den unserigen vergleichen, wo bei der bis zu 10mal wiederholten, langdauernden Adsorption sicher eine ganz andere Beladung der Bakterien und Verfestigung der Antikörper eingetreten war als dort.

Bei den Agglutinationsversuchen hat Spät überhaupt nur mit Normalrinderserum anscheinend 1mal (!) beladen. Hier gelten also die gleichen Einwendungen, abgesehen davon, daß die Spuren von normalen Antikörpern, die so von den Bakterien adsorbiert worden sind, nicht mit den Mengen von Immunagglutininen in unseren Bindungsversuchen verglichen werden können. Im übrigen sind wir durchaus in Uebereinstimmung mit Spät der Meinung, daß „die bei Normalantikörpern nachgewiesenen Verhältnisse nicht ohne weiteres auch auf die Immunantikörper übertragen werden dürfen“.

Diese Versuche Späts können also mit den unserigen nicht verglichen werden und scheinen mir als Beweismaterial für das vorliegende Problem nicht verwendbar.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Marburg
(Direktor: Geh.-Rat Bonhoff)].

Experimentelles zur Diphtherieprophylaxe.

Von **Walter Bieber.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. April 1921.)

Im Jahre 1912 publizierte Petruschky eine Arbeit, die den Titel trägt: „Erfolgreiche Versuche zur Entkeimung von Diphtheriebazillenträgern.“ Er berichtet dort von 7 Fällen hartnäckiger Diphtheriekeimträger, die er mit abgetöteten Diphtheriebazillen, und zwar in der Hauptsache mit dem eigenen Stamm, also Autovakzinen, subkutan und perkutan (1 Fall) behandelt hat. Selbstverständlich wäre das Gelingen einer aktiven Immunisierung gegen die Bazillen selbst von größter Bedeutung für die ganze Diphtherieprophylaxe, nicht nur weil durch die Entkeimung von Bazillenträgern Quellen für Infektionen beseitigt würden, sondern auch weil dann auf demselben Wege eine erfolgreiche Schutzimpfung gesunder Individuen möglich wäre, wie Petruschky selbst im 2. Teil seiner Arbeit hervorhebt. Ich unterzog mich der Aufgabe, die Möglichkeit der Diphtherieimmunisierung nach Petruschky experimentell nachzuprüfen, weil mir die für Arzt und Patienten bequeme „Einreibungsmethode“ geeignet scheint, schnell populär zu werden, und damit gegebenenfalls für die Durchführung einer Diphtherieprophylaxe viele Hemmnisse fallen würden. Auf Veranlassung und nach Angabe Petruschkys haben die Behringwerke ein Linimentum antidiphthericum hergestellt, das sowohl aus Diphtheriebazillen wie aus Strepto- und Staphylokokken besteht, die bei hoher Temperatur abgetötet sind. Dem gütigen Einverständnis von Herrn Professor Petruschky verdanke ich die Ueberlassung einer Probe des Impfstoffs für meine Versuche.

Als Versuchstiere wählte ich Meerschweinchen. Nach der Behandlungsart teilte ich sie in 8 Serien zu 3 Tieren.

Serie I: Behandlung über 2 Monate mit langsam steigenden Mengen (von 0,05—0,5 ccm) Linimentum antidiphthericum Petruschky durch Einreiben in die rasierte Bauchhaut. Während der ganzen Zeit der Behandlung zeigten sich keinerlei Reaktionserscheinungen an der Haut. Die Tiere blieben munter und nahmen an Gewicht zu.

Serie II: Behandlung 10mal in 18 Tagen (0,05—0,2 ccm) wie bei Serie I.

Serie III: Behandlung 10mal in 18 Tagen mit steigenden Dosen (0,05—0,2 ccm) eines Liniments, das ich aus im Vakuum getrockneten Diphtheriebazillen, Glycerin und etwas Alkohol herstellte. Die Bazillen waren nicht völlig abgetötet, sondern nur in ihrem Wachstum stark gehemmt: auf Löfflersches Serum gebrachtes Material zeigte erst nach zweitägigem Verweilen im Brutschrank spärliches Wachstum; an der enthaarten Haut der Tiere waren keine Veränderungen infolge der Behandlung festzustellen.

Serie IV: Behandlung in 20 Tagen mit 9 subkutanen Injektionen einer Emulsion von vakuumtrockenen Diphtheriebazillen in Kochsalzlösung. Anfangsdosis: 0,32 g Diphtheriebazillen-Trockensubstanz/100 Millionen Kochsalzlösung; Enddosis: 0,5 g Diphtheriebazillen-Trockensubstanz/100 000 Kochsalzlösung. Auch hier konnten keine Schädigungen im Verlaufe der Impfzeit gesehen werden; es kam auch nicht zur Infiltratbildung an den Injektionsstellen. Herabgesetzte Wachstumsfähigkeit des Impfmateri als war wie vorher festgestellt.

Serie V: Der Bodensatz von einer 8 Tage gut gewachsenen, umgeschüttelten Diphtheriebouillonkultur wurde mit der gleichen Menge Glycerin und etwas Alkohol gemischt, im Vakuum bei Zimmertemperatur auf etwa die Hälfte des Volumens eingengt, davon steigende Mengen von 0,05—0,2 ccm in 19 Tagen 8mal den Meerschweinchen in die rasierte Bauchhaut eingerieben. Auf Löfflersches Serum gebracht, erwies sich der Impfstoff als steril, was wohl auf die längere Einwirkung des Glycerinalkohols zurückzuführen ist. Nach der Einreibung von 0,1 ccm trat eine Rötung der eingeriebenen Hautstelle auf, die nach einigen Tagen wieder verschwand.

Serie VI: Behandlung perkutan mit Diphtheriegift, das mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung und der doppelten Menge Glycerin verdünnt wurde. 1 ccm des Liniments enthielt also 0,25 ccm Diphtheriegift. Davon wurden zunächst 0,02 ccm eingerieben. Am nächsten Tage Entzündung, dann Nekrose und Verschorfung; der ganze Prozeß dauerte bis zur Abheilung etwa 10 Tage. Die Impfung wurde im ganzen 3mal vorgenommen, zuletzt mit 0,1 ccm. Die Erscheinungen waren jedesmal ungefähr dieselben. 30 Tage nach Beginn der Behandlung bekam ein Tier eine diphtherische Lähmung, an der es einging.

Serie VII: Gegen Diphtheriegift aktiv immunisierte Meerschweinchen mit 5 Antitoxineinheiten in 1 ccm Serum. Auf die Vorbehandlung dieser Tiere werde ich später zurückkommen.

Serie VIII: Nicht vorbehandelte Kontrolltiere.

10 Tage nach der letzten Behandlung wurden die Tiere mit der tödlichen Menge Diphtheriebazillen infiziert. Zur Infektion wählte ich einen frisch von einer Rachendiphtherie reingezüchteten Stamm, von dem 0,05 Platinöse in 2 Tagen tödlich wirkte, was ich durch Vorversuche genau ermittelt hatte. Ich schwemmte 1 Platinöse einer 24 Stunden auf Löfflerschem Serum gewachsenen Kultur in 20 ccm Kochsalzlösung auf, zerteilte die Bazillen gleichmäßig durch Schütteln und gab dann davon 1 ccm jedem Meerschweinchen (ausgenommen Serie VII) subkutan. Serie VII erhielt gleichzeitig die 10-fach tödliche Dosis = 0,5 Platinöse Diphtheriebazillenkultur in 1 ccm Kochsalzlösung. Am Tage nach der Infektion hatten alle Tiere bis auf die Serie VII ein deutlich fühlbares Infiltrat an der Injektionsstelle. Die giftimmunen Tiere (Serie VII) zeigten keine Veränderungen. Am 2. Tage (innerhalb 48 Stunden) waren der Infektion erlegen: die unvorbehandelten Kontrolltiere (Serie VIII) und die mit dem Liniamentum antidiphthericum Petruschky vorbehandelten Meerschweinchen (Serie I und II). Bei der Sektion wiesen alle die Zeichen des akuten Diphtherietodes auf: braunrote Verfärbung der Nebennieren, Transsudat in der Brusthöhle. Subkutan starkes Infiltrat, das fast über die ganze Bauchgegend reichte. Der Befund war bei allen Tieren gleich. Auch darin stimmte er völlig überein, daß im infiltrierten Gewebe und in der Umgebung massenhaft Diphtheriebazillen nachgewiesen werden konnten. Etwa 66 Stunden nach der Infektion waren die Tiere aus den Serien V und VI gestorben. Der Sektionsbefund war derselbe wie bei den zuerst eingegangenen. In den folgenden Tagen war bei den Tieren aus Serie III und IV eine Gewichtsabnahme zu verzeichnen. 6 Tage nach der Infektion, teilweise etwas früher, gingen auch diese Tiere ein. Bei der Sektion sah man unter der Bauchhaut eine über die ganze Bauchfläche ausgedehnte ödematöse Entzündung mit reichlichem Diphtheriebazillenfund. Die Zeichen des akuten

Diphtherietodes waren nicht so ausgesprochen wie bei den früher sezierten Tieren. Das Transsudat in der Brusthöhle fehlte, die Nebennieren waren kaum gerötet. Während alle diese Versuchstiere der Infektion bereits erlegen waren, blieben die Meerschweinchen aus Serie VII unverändert munter. Nunmehr gab ich einem Meerschweinchen davon die 100-fach tödliche Dosis Diphtheriebazillenkultur = 5 Platinösen in 1 ccm Kochsalzlösung (wieder vom Löffler Serum). Am Tage darauf ein winziges Infiltrat an der Injektionsstelle, das nach 2 Tagen nicht mehr fühlbar war. Das Tier blieb weiter gesund und hat bis heute keine Erscheinungen von Kranksein gezeigt. Es ist also auch mit dieser Bazillenmasse gut fertig geworden.

Ziehen wir nun das Fazit aus unseren Versuchen.

Was das Linimentum antidiphthericum Petruschky angeht, so haben die Versuche leider keinen Anhaltspunkt dafür ergeben, daß seine Anwendung die Diphtherieerkrankung verhüten, ja auch nur ihren Verlauf mildern könnte. Der Tierorganismus erscheint durch die Vorbehandlung gegenüber der Diphtherie völlig unbeeinflusst; denn die vorbehandelten Versuchstiere verhielten sich absolut so wie die unvorbehandelten Kontrollen, auch in bezug auf den Bazillenfund, nachdem sie der Infektion erlegen waren. Das Vorhandensein bakterizider Stoffe, deren Bildung doch beabsichtigt war, hätte sich im Verlauf der Infektion irgendwie bemerkbar machen müssen. Es ist auch unwahrscheinlich, daß eine weiter modifizierte Behandlung an dem Endresultat etwas geändert hätte. Demgemäß können wir auch kaum hoffen, eine Entkeimung von Bazillenträgern auf die von Petruschky angegebene Weise zu erreichen. Die Mitteilungen von Petruschky selbst enthalten nichts absolut Beweisendes, da die Kontrollen fehlen. Die betreffenden Patienten sind überdies trotz der Behandlung zum Teil erst nach recht langer Zeit ihre Bazillen losgeworden, was wohl ebenso ohne Behandlung hätte eintreten können. Neißer und Gins prüften das Petruschkysche Verfahren an klinischem Material nach. Sie vakzinierten 30 Diphtheriepatienten mit abgetöteten Bazillen und konnten dabei kein auffallend schnelleres Verschwinden der Bazillen

beobachten, als bei den nicht vakzinierten. So können wir das Problem der Diphtherieentkeimung und aktiven Immunisierung durch die antidiphtherischen Linimente Petruschkys leider als nicht gelöst ansehen.

Der von den Kontrollen verschiedene, langsamere Verlauf der Infektion bei den Tieren in den Serien III und IV berechtigt uns nicht zu der Hoffnung, daß schließlich auf diesem Wege doch noch etwas zu machen wäre. Gewiß ist auch hier die Vorbehandlung mit Bazillen erfolgt. Jedoch enthielt der Impfstoff lebende, wenn auch abgeschwächte Keime, die im Tierkörper Toxine bildeten, welche wiederum zur Bildung von Antitoxinen führten. Diese gelang es mir auch tatsächlich vor der Infektion im Blutserum nachzuweisen, und zwar fand ich in 1 ccm etwa $\frac{1}{300}$ Antitoxineinheiten.

Noch in anderer Hinsicht war mir diese Feststellung bemerkenswert. v. Behring bezeichnete Individuen mit $\frac{1}{100}$ -bis $\frac{1}{20}$ -fach normalem Blute als genügend gegen Diphtherie geschützt. „Es kommt freilich hier und da vor, daß auch bei einem Gehalt von mehr als $\frac{1}{20}$ Antitoxineinheit in 1 ccm Blut eine durch das Diphtherievirus bedingte Erkrankung der Halsorgane beobachtet wird; diese hat dann aber durchaus lokalen Charakter und verläuft abortiv ohne Anzeichen der Mitbeteiligung innerer Organe am diphtherischen Prozeß, was so zu erklären ist, daß nur solche Teile der Halsorgane, die vom Blutkreislauf mehr oder weniger vollständig ausgeschaltet sind, des Diphtherieschutzes entbehren.“ Wir sahen, daß bei den Tieren mit $\frac{1}{300}$ Antitoxineinheiten in 1 ccm Blutserum die Infektion zwar einen langsameren Verlauf nahm, daß sie schließlich aber doch zum Tode führte. Andererseits konnten wir feststellen, daß ein Tier mit einem Antitoxingehalt von 5 Einheiten in 1 ccm (Serie VII) die 100-fach tödliche Dosis vertrug, und nur ein schnell vorübergehendes, minimales Infiltrat an der Injektionsstelle entstand. Rechnet man auf die einfach tödliche Dosis Bazillenkultur um, so würde $\frac{1}{20}$ Antitoxineinheit danach ihre schädliche Wirkung aufheben können. Es ist sehr gut möglich, daß ein Antitoxintiter von $\frac{1}{100}$ Einheiten im Kubikzentimeter Blut im allgemeinen die Lebens-

gefahr beseitigt, als sicher möchte ich nach diesen Versuchen annehmen, daß $\frac{1}{20}$ -fach normales Blut vor ernsterer Erkrankung auch bei schwerer Infektion schützt, so daß auch hier v. Behrings Annahme eine gewisse Bestätigung fände, zu der er selbst auf Grund von Erfahrungen gekommen war, die man in der Praxis bei der passiven Immunisierung mit dem vom Pferde stammenden Diphtherieheilserum gemacht hat.

Nun war von Interesse für mich, zu ermitteln, ob und wie weit eine aktive Immunisierung auf perkutanem Wege möglich ist. Wir wissen, daß die Haut gegenüber dem Diphtherievirus relativ unempfindlich ist. Löwen und Reinhardt fanden in weiter Umgebung von diphtherischen Wunden die Haut mit Diphtheriebazillen behaftet, ohne Veränderungen aufzuweisen. Dagegen gelingt es, wie schon Kolle und Schloßberger u. a. nachgewiesen haben, durch Einreiben virulenter Bazillen in die rasierte Bauchhaut von Meerschweinchen bestimmte pathologische Veränderungen an ihr hervorzurufen. Hetsch und Schloßberger machen mit Recht darauf aufmerksam, daß genau derselbe Krankheitsprozeß auch durch Einreiben von bakterienfreiem Diphtheriegift erzeugt wird. Dasselbe konnte ich beobachten. Gleiche Versuche mit toten Bazillen und mit dem nach der Lustigschen Methode aus den Diphtheriebazillen gewonnenen Nukleoproteid, das nach v. Gröer und Kassowitz bei der Schickschen Probe die häufig auftretende paradoxe Reaktion auslösen soll, haben negative Resultate gefördert und damit weiterhin bewiesen, daß nur das Diphtherietoxin allein die Ursache der Hautveränderung sein kann. Ich untersuchte ferner, welche Giftmengen erforderlich sind, um bei perkutaner Applikation deutliche Reaktionen an der Haut zu erzielen, und kam zu sehr hohen Zahlen. Während intrakutan mit ganz geringen Giftmengen ($0,5 + M$) eine deutliche Reaktion (Rötung und Infiltrat) erhalten wird, ist bei subkutaner Injektion 8mal so viel Gift erforderlich, um ein fühlbares Infiltrat an der Impfstelle zu erzeugen; bei perkutaner Verimpfung mußte ich ein viel mehr als 1000mal stärkeres Gift wählen, um eine Entzündung der Haut zu verursachen, eine Menge also, die die tödliche Dosis bei sub-

kutaner Injektion weit übersteigt. Demnach bildet die Haut einen kräftigen Schutzwall des Körpers gegen die Diphtherievergiftung. Ganz nahe dem Reaktionswert liegt jedoch der Todwert. Das ist auch verständlich: denn, ist einmal die schützende Epitheldecke zerstört, so kann das Gift ungehemmter in den Organismus eindringen. Behandelt man Meer-schweinchen mit der reaktionserzeugenden Menge Diphtherietoxin perkutan, wie es bei den Tieren in den Serien V und VI geschehen ist, so tritt keine nennenswerte Antitoxinbildung ein. Das beweist das Schicksal der Tiere nach der Infektion mit der tödlichen Dosis Bazillenkultur; es gelang mir auch nicht, Antitoxin im Blutserum der Tiere nachzuweisen. Hier scheint es sich um einen der natürlichen Diphtherieerkrankung verwandten Prozeß zu handeln, nach der der Organismus auch antitoxinfrei gefunden wird. Anders verhalten sich bei gleicher Behandlung bereits subkutan oder intrakutan vorimmunisierte Tiere. 3 Tieren (Serie VIII) mit gut $\frac{1}{50}$ Antitoxineinheit in 1 ccm Serum rieb ich die für unvorbehandelte Tiere reaktions-erzeugende Menge Toxin in die Haut. Wohl kam es zu einer Epithelschilferung; die Entzündung blieb jedoch aus. Nach mehrmaliger Wiederholung der Impfung mit steigenden Dosen untersuchte ich von neuem das Blut auf seinen Antitoxingehalt. Es war 5-fach normal! Die Tiere erhielten dann die 10-fach bzw. 100-fach tödliche Menge Diphtheriebazillenkultur. 4 Wochen nach dieser Infektion wiederholte ich die Serumprüfung und konnte ein weiteres Steigen des Antitoxintiters nachweisen. Hier sehen wir das Merkwürdige und für die Praxis überaus Wichtige, daß eine Infektion, die dem nicht immunen Organismus schädlich und gefährlich ist, einem immunisierten Individuum geradezu zum Vorteil gereicht. In der Praxis konnte ich Beobachtungen machen, die auf einen gleichen Vorgang schließen lassen. Bei einigen Personen, die im Jahre 1913 mit dem v. Behringschen „TA“ geimpft worden waren, fand ich noch nach über 6 Jahren einen sehr hohen Antitoxintiter (1 Antitoxineinheit und mehr in 1 ccm Serum). Gerade diese Personen waren besonders stark der Möglichkeit einer Infektion mit dem diphtherischen Virus ausgesetzt; es handelte sich um Krankenhauspersonal und um

Individuen, in deren Familien in der Zwischenzeit Diphtherieerkrankungen vorgekommen waren.

Es blieb mir noch zu untersuchen, wie sich die intakte Haut frischer Meerschweinchen schwachen Giften gegenüber verhält. Ist sie absolut undurchlässig? Für die menschliche Schleimhaut kann man diese Frage verneinen. Denn wie kommt sonst das Antitoxin in das Blut gesunder Diphtheriebazillenträger, das mehrfach nachgewiesen wurde (v. Behring, Otto u. a.)? Ebenso fanden Hoffmann, Bieber und Dietrich das unverletzte Granulationsgewebe von Wunddiphtheriebazillenträgern für das Diphtherietoxin durchlässig. Um die Frage der Durchlässigkeit normaler Haut zu erklären, verimpfte ich perkutan sehr verdünntes Gift in allmählich steigenden Dosen Meerschweinchen in die Bauchhaut. Selbst nach langer Behandlungszeit waren nur Spuren Antitoxin in ihrem Blute. Einer subkutanen Impfung mit der tödlichen Toxindosis erlagen sie. Das spricht dafür, daß durch die normale Haut nur verschwindend geringe Giftmengen resorbiert werden. Demnach ist die perkutane Applikation zur Vorimmunisierung ungeeignet.

Sollten die Versuche mit perkutaner Nachbehandlung vorimmunisierter Meerschweinchen, auf den Menschen übertragen, zu gleich guten Resultaten führen, was noch zu untersuchen bleibt, so wäre eine Dauerimmunität diphtheriegefährdeter Kinder unschwer zu erreichen.

Zusammenfassung.

1) Auf Grund tierexperimenteller Untersuchungen mit dem von Petruschky angegebenen Linimentum antidiphthericum kann dieses zur prophylaktischen Vorbehandlung gegen Diphtherieerkrankung und zur Entkeimung von Diphtheriebazillenträgern nicht als geeignet angesehen werden.

2) $\frac{1}{20}$ Diphtherie-Antitoxineinheiten in 1 ccm Blutserum schützen im Tierexperiment vor tödlicher Erkrankung an Diphtherie.

3) Während die reaktionserzeugende Dosis von Diphtherietoxin bei intrakutaner Impfung 0,5 + M, bei subkutaner 8mal mehr beträgt, ist bei perkutaner Applikation ein viel mehr als 1000mal stärkeres Gift erforderlich, um die erste Reaktion zu erreichen.

4) Werden intrakutan oder subkutan vorimmunisierte Meerschweinchen mit starken (perkutan reaktionserzeugenden) Giften perkutan nachbehandelt, so erreicht man ein schnelles Steigen des Antitoxintiters im Blut.

Nachdruck verboten.

**Bemerkung zu der mir freundlichst zugestellten Korrektur
der Arbeit Dr. Biebers.**

Von I. Petruschky.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Juli 1921.)

So interessant die berichteten Versuche Biebers an sich auch sind, scheinen mir doch Tierversuche für die Beurteilung von Schutzbehandlung des Menschen nicht ausschlaggebend zu sein. Namentlich weil die natürliche Infektion des Menschen mit wenigen Keimen auf die Schleimhautoberfläche (Diphtherie) durchaus nicht vergleichbar ist mit der Einspritzung einer tödlichen Dosis toxinhaltiger Bazillen.

Die Schutzbehandlungsversuche müßten an einer großen Anzahl von Menschen angestellt werden in ähnlicher Weise, wie die Schutzbehandlungsversuche Dietrichs mit Ruhrvakzin und Ruhrliniment (Med. Klinik, 1919, No. 35), welche sehr große Ausschläge zugunsten der Schutzbehandelten gaben. Z. B. könnte zurzeit einer Diphtherieepidemie in den Klassen einer ganzen Schule ein Teil der Schüler der — als unschädlich erwiesenen — Einreibung mit Diphtherieliniment unter-

zogen werden, die anderen (namentlich diejenigen, deren Eltern den Versuch ablehnen) ohne Schutzbehandlung bleiben. Es würde dann die Zahl der vorkommenden Diphtherieerkrankungen und Todesfälle bei beiden Gruppen zu zählen sein. Auch die Entkeimung von Keimträgern mit Vakzin aus Bazillenemulsion dürfte weiterer Versuche wert sein, namentlich bei Dauerkeimträgern. Es ist ja möglich, daß der perkutane Weg der Schutzbehandlung bei Diphtherie weniger geeignet ist als bei Ruhr und Kokkeninfektion, aber die vorliegenden Versuche sind meines Erachtens nicht ausreichend, dies für den Menschen zu beweisen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Zur Technik der Herzpunktion beim Meerschweinchen.

Von Dr. E. Putter,
Assistent am Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Mai 1921.)

Die Komplementgewinnung beim Meerschweinchen geschah vor dem Kriege wohl allgemein durch die völlige Entblutung der Tiere aus der Carotis oder der Femoralis (Morgenroth)¹⁾. Rechnet man, wie üblich, $\frac{1}{25}$ des Körpergewichts als Höchstmenge des zu gewinnenden Serums, so entspricht das je nach Größe der Tiere 10—12 ccm Komplement. Bei einem Marktpreis von 1,50—2,00 M. für das 300 g-Tier stellte sich also der Kubikzentimeter auf 15 Pf. Heute kosten Meerschweinchen von 300 g 15—20 M. Der Kubikzentimeter Komplement be-

1) Morgenroth, Ges. Arb. zur Imm.-Forsch., Berlin 1904.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 32.

rechnet sich demnach auf 1,50—2,00 M., also das 10-fache des Friedenspreises.

Bei dem beschränkten Etat der Universitätsinstitute ließ sich diese Tierverschwendung natürlich nicht mehr durchführen. Es ergab sich deshalb von selbst, daß man nach Mitteln suchte, den Komplementbedarf auf rationellere Art zu decken.

Von allen Methoden hat sich die Herzpunktion mit Recht am meisten eingebürgert. Die Blutentnahme aus der Carotis bietet keinen wesentlichen Vorteil gegenüber der völligen Entblutung. Abgesehen davon, daß das Verfahren immerhin etwas umständlich ist und ziemlich viel Zeit erfordert, läßt es sich doch am selben Tier nur einige Male durchführen, wobei man dem Meerschweinchen jedesmal 5 ccm Blut unbeschadet entnehmen kann, namentlich wenn durch subkutane Kochsalzinjektionen der Flüssigkeitsverlust sofort ersetzt wird. Ist die eine Carotis nicht mehr verwendbar, so muß man zur völligen Entblutung schreiten, da die Tiere eine beiderseitige Unterbindung der Halsschlagader in manchen Fällen nicht vertragen.

Demgegenüber bedeutet die Zahnsche Saugpumpe¹⁾, die später von Reich²⁾ in etwas abgeänderter Form erneut empfohlen wurde, zweifellos einen Fortschritt auf dem Wege der Komplementgewinnung. Immerhin hat sie manche Nachteile. Bei vielen Tieren gelingt es infolge schwacher Venenbildung am Ohr nur bei stärkerem Saugen größere Mengen Blut zu gewinnen. Saugt man aber kräftig, so lassen sich Schädigungen des Gleichgewichtsapparates und oft genug auch ernstere Verletzungen des inneren Ohres nicht vermeiden. Die Tiere zeigen nach der Prozedur einen ausgesprochenen Nystagmus, Krümmung des Körpers, Kopfnicken, Rollbewegungen, Krämpfe und andere Gleichgewichtsstörungen, die sich zwar im wesentlichen in den nächsten Tagen zurückbilden, gar nicht selten aber auch persistieren und schließlich zum Tode führen. Der Tierverlust ist also bei dieser Methode keineswegs unbedeutend. Zudem dauern die notwendigen vorbereitenden Handgriffe und die Entnahme selbst doch eine beträchtliche Zeit, die in Instituten mit

1) A. Zahn, Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 16, p. 861.

2) F. Reich, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 4, p. 111.

großem Komplementbedarf bei dem Mangel an geschultem Hilfspersonal nur schwer aufzubringen sein wird. Die Geduld wird auf eine harte Probe gestellt, die sie oft genug nicht besteht, so daß man schließlich doch zum Messer greift, um durch die Entblutung des Tieres die notwendige Serummenge zu gewinnen.

Also bleibt nur die Herzpunktion über, die sich bis vor dem Kriege nur wenig eingebürgert hatte, wenn es sich darum handelte, Komplement zu gewinnen, die vielmehr nur zum Zweck der Injektion in die Blutbahn durchgeführt wurde. Französische Autoren haben sie viel geübt^{1) 2) 3)}. In Deutschland hat sie hauptsächlich Morgenroth^{4) 5)} eingeführt.

Die Herzpunktion hat der Zahnschen Methode gegenüber zweifellos eine Reihe von Vorteilen. Erstens läßt sie sich mit einem Minimalaufwand an Zeit durchführen. Gelingt sie gut, so ist sie für die Tiere völlig gefahrlos und keineswegs angreifend. Die Meerschweinchen können immer wieder, sofern man ihnen zwischen den einzelnen Punktionen genügend Erholungszeit gönnt und die entnommene Blutmenge jedesmal durch Kochsalzlösung ersetzt, zur Blutentnahme herangezogen werden, ohne daß das Komplement etwa in seiner komplettierenden Kraft oder Deviability beeinträchtigt wird.

Aber auch die Herzpunktion hat ihre Schattenseiten. Sie erfordert sicherlich mehr Geschick und Uebung von seiten des Operateurs als die Zahnsche Methode. In der Hand des Geübten wird sie dann aber gewiß in den meisten Fällen zum Ziele führen und der Tierverlust sich auf ein Minimum reduzieren lassen.

Allerdings ist er bei der bisher geübten Technik nicht völlig auszuschalten, so daß das eine oder andere Tier doch durch intraperikardiale oder intrapleurale Blutung ad exitum kommen kann. Auch ist es bei dem beschränkten Diener-

1) Rayband et Hawthorn, Compt. rend. de la Soc. de Biol., 1903, T. 55, p. 815.

2) Camus, *ibid.* p. 825.

3) Nicolle et Ducloux, *ibid.* p. 904.

4) Morgenroth, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 48, 1904, p. 195.

5) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1904, No. 20.

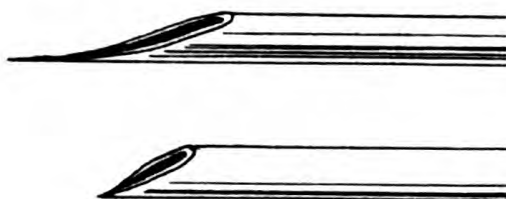
personal nicht unwesentlich, daß man zur Durchführung der Herzpunktion einen oder zwei Helfer notwendig hat. Im allgemeinen wird das Tier von zwei Gehilfen gehalten, wie es z. B. Baumgärtel¹⁾ machen läßt. Aber auch mit einem gewandten Diener wird man auskommen können (Morgenroth). Belanglos erscheint es mir, ob das Tier auf einem Brett fixiert wird, ob man es auf dem Schoß halten läßt, ob man es in senkrechter Lage, in Rücken- oder Seitenhaltung punktiert, ob man mehr von vorne neben dem Sternum nach der Morgenrothschen Vorschrift, oder mehr seitlich, etwa in der Medioklavikularlinie eingeht. Das ist Sache der Uebung und Gewohnheit.

Ich möchte dagegen auf eine Kleinigkeit aufmerksam machen, die, so unbedeutend sie auch auf den ersten Blick zu sein scheint, doch äußerst wichtig ist für die ungestörte Durchführung der Herzpunktion, und durch deren Beachtung allein man die meisten Tierverluste vermeiden kann.

Ueberall werden wohl die Rekordkanülen verwandt. Zu enge Hohnadeln eignen sich nicht, da das Blut nur schwer durch das feine Lumen hindurchtritt und man infolgedessen äußerst langsam aspirieren muß. Die weiteren Kanülen aber, wie sie gewöhnlich gebraucht werden (ungefähr 1 mm Durchmesser), haben einen großen Nachteil. Sie besitzen eine sehr lang ausgezogene, schreibfederartig zugeschliffene Spitze (siehe Figur). Man muß infolgedessen die Nadel sehr tief in das Herzlumen einführen, um die birnförmige Mündungsfläche der Kanüle völlig in die Blutflüssigkeit zu versenken. Dabei besteht aber die große Gefahr, die gegenüberliegende Aorten- oder Pulmonalwand anzuritzen, was unfehlbar den Tod des Tieres durch Selbsttamponade des Herzens zur Folge hat. Die Länge des schreibfederartig ausgezogenen Teiles der Rekordkanüle beträgt ungefähr 4—5 mm. Größer aber dürfte der Durchmesser des Ventrikels eines Meerschweinchenherzens, zumal während der Systole, nicht sein. Ritzt man mit der Nadelspitze die interventrikuläre Septumwand, so wird das gewöhnlich ohne Belang sein, da die Muskelbündel des Septums die Oeffnung ver-

1) Baumgärtel, Centralbl. f. Bakt., Bd. 85, 1920, Heft 4, p. 281.

schließen, schlimmstenfalls eine kleine Kommunikation zwischen linkem und rechtem Herzen geschaffen wird. Liegt jedoch die Nadel zufällig so, daß sie mit ihrer Spitze auf die Aorta oder Pulmonalis weist, dann wird das Gefäß äußerst leicht perforiert, was die Verblutung des Tieres in den Herzbeutel mit Sicherheit nach sich zieht. Tatsächlich habe ich in allen Fällen, in denen die Punktion verunglückte und den Tod des Tieres zur Folge hatte, stets eine derartige Gefäßverletzung bei der Sektion nachweisen können.



Es ergibt sich also, daß die käuflichen Rekordkanülen zur Herzpunktion ungeeignet sind. Man muß deshalb Hohl-nadeln verwenden, bei denen der ganze schreibfederartige Teil fehlt und nur eine ganz schwach ovale, beinahe kreisförmige Mündungsfläche besteht (siehe Figur)¹⁾. Eine kleine scharfe Spitze muß natürlich erhalten bleiben, damit man leichter die Brustwand durchdringen kann und das Herz vor der Nadel nicht ausweicht.

Bei Befolgung dieses kleinen Kunstgriffes wird man Tierverluste durch die Herzpunktion zu den seltensten Vorkommnissen rechnen können.

Zum Schluß mag noch ein Handgriff Erwähnung finden, mit dessen Hilfe man die Punktion ohne jede Assistenz durchführen kann, ohne das Tier auf ein Operationsbrett aufspannen zu müssen, ähnlich wie ihn Friedberger²⁾ für die intraperitoneale Injektion angegeben hat. Man legt das Meerschweinchen mit der Rückenseite auf den Schoß, die Hinterbeine nach den Knien zu gerichtet, den Unterkörper bis zum

1) Diese Herzpunktionsnadeln sind zu beziehen von der Firma Paul Altmann, Berlin NW., Luisenstraße 47.

2) Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 1905, Heft 6, p. 718.

480 E. Putter, Zur Technik der Herzpunktion beim Meerschweinchen.

Rippenbogen bringt man zwischen die Oberschenkel und fixiert ihn in dieser Haltung durch leichten Druck der Beine. Mit dem kleinen Finger der linken Hand hält man den linken, mit dem der rechten Hand den rechten Vorderfuß kopfwärts zurück. Das Tier liegt in dieser Situation ganz ruhig. Man behält so die übrigen Finger beider Hände frei, um die Nadel einzuführen und die Blutentnahme anzuschließen.

Zusammenfassung.

Es wird eine neue Nadel zur Meerschweinchenherzpunktion empfohlen, bei der tödliche Verletzungen des Herzens vermieden werden können.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4919

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern
(Direktor: Prof. Dr. G. Sobornheim).]

Experimentelle Beiträge zur Vakzineimmunität.

Von Dr. med. **Kunio Sato.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. März 1921.)

Inhaltsverzeichnis: I. Einleitung. — II. Versuchstechnik. Verlauf der Impfung. — III. Ergebnis der zweiten Impfung: 1) Schützt die kutane Infektion gegen die folgende kutane Infektion? 2) Schützt die Korneainfektion gegen die folgende Korneainfektion? 3) Erzeugt punktförmige Impfung der Kornea totale Immunität derselben? — IV. Beziehung der Hornhaut zur allgemeinen Immunität: 1) Schützt die kutane (subkutane) Infektion gegen die folgende Korneainfektion? 2) Schützt die Korneainfektion gegen die folgende kutane Infektion? 3) Schützt Infektion einer Kornea auch die andere? — V. Serumveränderung durch die Vakzineimpfung: 1) Ist die kutane Impfung mit spezifischer Serumveränderung verbunden? 2) Ist die Korneainfektion mit spezifischer Serumveränderung verbunden? 3) Wird die Serumveränderung durch wiederholte Impfung gesteigert? Ist hierzu Reaktion erforderlich oder nicht? — VI. Zur Vererbung der Vakzineimmunität. — VII. Schlußfolgerungen: 1) Ueber die Theorie der Variolavakzineimmunität. 2) Zur Wirkung der Revakzination. — VIII. Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

I. Einleitung.

Die Anschauungen über das Wesen der Vakzineimmunität haben manche Wandlung durchgemacht. Seitdem man auf experimentellem Wege, vor allem mit Hilfe des Kaninchen-experiments, der Frage näher getreten ist, ist dieses auch heute noch viele Rätsel bietende Phänomen doch wesentlich geklärt worden. Während aber anfänglich der Vakzineimmunität rein histogener Charakter zugeschrieben und eine Antikörperwirkung zum mindesten als unerheblich betrachtet wurde, hat allmählich die Antikörpertheorie der Vakzineimmunität auf Grund der seit einigen Jahren beigebrachten Befunde immer mehr an Boden gewonnen. Namentlich war es die vermeintliche Sonderstellung der Kornea gewesen, welche der Lehre von dem histogenen Charakter der Vakzineimmunität eine Stütze lieh, sodann aber hatte man das regelmäßige Auf-

treten spezifischer Antikörper in dem Serum vakzinierter Menschen und Versuchstiere nicht sicher feststellen können. Es haben sich indessen die Mitteilungen und Beweise gemehrt, wonach von einer völligen Sonderstellung der Kornea hinsichtlich der Immunitätsverhältnisse keine Rede mehr sein kann, und auch der Nachweis virulizider Antikörper im Gefolge der Vakzineinfektion ist mit Hilfe verbesserter Untersuchungstechnik immer regelmäßiger geglückt.

Dennoch sind die Zusammenhänge keineswegs schon völlig klar und eindeutig. Ich habe es daher unternommen, mich durch eigene Experimente über die vorliegende Frage zu unterrichten. Insbesondere erstrecken sich die Versuche auf die Beziehungen zwischen Haut- und Korneaimmunität, auf das Verhalten der antivirulenten Serumstoffe nach Stärke und Dauer ihrer Wirksamkeit, auf Fragen der Vererbung, sowie auf die Revakzination und ihren Einfluß auf den Antikörpergehalt des Blutes.

In dem vorstehenden Uebersichtsplan sind die Fragestellungen im einzelnen wiedergegeben, die als Grundlage der Versuchsanordnung dienen.

II. Versuchstechnik. Verlauf der Impfung.

Als Impfmateriel für diese Vakzinestudie stand immer die virulente Glyzerinlymphe des schweizerischen Serum- und Impfinstitutes zu meiner Verfügung.

1. Kutane Impfung.

Zu diesem Zwecke habe ich ausschließlich Kaninchen benutzt. Die Brauchbarkeit des Kaninchens zum Studium der experimentellen Vakzine zu erörtern, erübrigt sich, seitdem durch die Mitteilungen von Gaillieton (1889), Bard und Leclerc (1891) und späterhin durch zahlreiche andere Untersuchungen, besonders neuerdings durch die umfangreiche Arbeit von Gins (1), diese Tatsache über jeden Zweifel sichergestellt ist.

Hinsichtlich der Impftechnik empfohlen Voigt (58) und L. Pfeiffer (59), den Kaninchenrücken zu rasieren und darauf direkt ohne Skarifikation die Lymphe einzureiben; allerdings könne man noch ein besseres Resultat erwarten,

wenn man die rasierte Fläche mit Sandpapier abreibe. Anstatt des Rasierens werden neuerdings chemische Epilationsmittel vielfach bevorzugt.

Bei meinen eigenen Versuchen wurden nur anfänglich chemische Mittel gebraucht, später aber habe ich die Haut immer rasiert, weil ich dieses Verfahren ebensogut und weniger umständlich gefunden habe. Zuerst wird dabei das Haar beider Flanken möglichst kurz geschnitten und der Impfbezirk gründlich eingeseift. Die rasierte Fläche wird dann samt der Umgebung mit warmem Wasser gut abgewaschen und von der Seife befreit. Darauf folgt Alkoholbetupfung. Vor der Impfung muß der Alkohol wieder vollständig verdunsten. Das Ritzen der Epidermis versuchte ich mit einer Lanzette, wie sie für die Vakzination benutzt wird, und fand sie sehr zweckentsprechend, so daß ich mich danach immer ausschließlich dieses Instrumentes bedient habe. Das Ritzen geschieht in der Richtung der Körperachse, von vorn nach hinten, in Parallelstrichen. Die Vakzinelymphe wird mit einem sterilen Glasstab gut eingerieben und man wartet ab, bis die geimpfte Fläche trocken geworden ist, ehe man das Tier vom Fixierbrett löst. Mit dieser Methode habe ich fast immer befriedigende Resultate erzielt.

Die Konzentration der Lymphe wurde in den einzelnen Versuchsreihen vielfach variiert. Teils gelangte unverdünnte Lymphe zur Verwendung, teils wurden Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, im Verhältnis von 1:10, 1:50, 1:100. Näheres findet sich in den entsprechenden Tabellen angegeben.

Der Verlauf ist dann der folgende:

Am Tage nach der Impfung treten die geritzten Hautstriche deutlich hervor und es zeigt sich diffuse leichte Rötung. Am 3. Tage erscheinen die Impfstriche stärker gerötet, wobei sie auch gleichzeitig leistenartig anschwellen. Gewöhnlich erfolgt die Pusteleruption am 4. Tage nach der Impfung auf der Kuppe der Leisten, um in der Regel 2 Tage lang zu bestehen. Die Pusteln sind meistens klein und haben nur geringen Inhalt. Mit dem Rückgang der Röte geht Eintrocknung und Borkenbildung Hand in Hand. Bereits nach wenigen Tagen beginnen weiterhin die dicken, harten Borken abzu-

33*

fallen, und etwa 2 Wochen nach der Impfung tritt die ein wenig schuppige Haut wieder zutage.

Nur ganz ausnahmsweise verlief die Reaktion nicht so vollkommen und typisch; es kam in solchen Fällen einfach zu einer Papeleruption mit nachheriger Krustenbildung, oder lediglich zur Krustenbildung. Diese Wirkung soll nach Voigt, Süpfle (4), Gins (1) etc. nicht nur von der schwachen Virulenz der benutzten Lymphe abhängen, sondern auch vom Alter der Tiere. Daß es sich dabei tatsächlich um eine spezifische Reaktion handelt, geht aus dem Verlauf einer 2. Impfung hervor, die nach meinen Beobachtungen genau so negativ ausfällt, wie bei stark und typisch reagierenden Tieren (vgl. Tabelle I, No. 71). Aber, wie gesagt, diesen abgeschwächten und unvollkommenen Impfeffekt habe ich bei erstmalig geimpften Kaninchen nur recht selten feststellen können, im ganzen unter zahlreichen Impfungen 2—3mal.

Bei der negativen Reaktion, wie wir sie bei immunisierten Tieren beobachten, macht sich hauptsächlich diffuse Rötung als einfache Wundreaktion bemerkbar, und eine lokale Rötung an den Impfstichen tritt höchstens andeutungsweise auf. Weder Infiltration noch gar Pusteleruption machen sich bemerkbar. Das Abfallen der geringen Kruste sowie die Abnahme der Rötung erfolgen schneller als bei der positiven Reaktion.

Was die Körpertemperatur anbetrifft, so läßt sich, wie Süpfle (4) schon bemerkt hat, daraus nichts Bestimmtes schließen. Ich habe eine Zeit lang regelmäßige Messungen an geimpften Tieren ausgeführt, wobei ganz ungleichmäßige Resultate erhalten wurden. Die Temperatur war zwar meistens erhöht, in einer Reihe von anderen Fällen aber wieder nicht, und namentlich war die Temperaturerhöhung oft nur gering.

Es wird vielfach angegeben, daß das Albino am meisten empfänglich sei. Leider konnte ich nicht immer genügend Tiere dieser Art erhalten, so daß ich alle Kaninchen, welche zur Verfügung standen, welcher Farbe sie auch sein mochten, zu Impfzwecken verwendete. Wie Gins (1) hervorgehoben hat, läßt sich an pigmentierten Hautstellen wegen des besonders schnellen Haarwuchses das Resultat nur mangelhaft beurteilen; daher habe ich solche Stellen immer vermieden.

2. Korneaimpfung.

Das Kaninchenauge wird zuerst durch Einträufeln von 2-proz. Kokainlösung in den Konjunktivalsack unempfindlich gemacht. Als Ritzinstrument taugt am besten die sterile spitze Nadel, und zwar eine etwas dickere Spritzenadel, dagegen ist eine Lanzette hier unzweckmäßig, weil man damit leicht die Bindehaut und Nickhaut verletzen kann. An der Kornea werden gitterförmige Ritzungen vorgenommen und hierauf mit der Platinöse das Impfmateriel eingerieben. Manchmal habe ich noch die Einreibung mit dem glatten abgerundeten Ende eines Glasstabes folgen lassen, doch scheint es mir überflüssig zu sein, weil ich keinen besonderen Erfolg davon gesehen habe.

Die Symptome der spezifischen Keratitis sind ganz charakteristisch und bei v. Wasielewski (60), Paschen (6), v. Prowazek (10), und Gins (1) sehr eingehend und genau beschrieben. Ich gebe die Beobachtungen der Autoren, die sich mit meinen eigenen Wahrnehmungen decken, im folgenden kurz wieder.

Die Impfung mit einer stark virulenten Lymphe verläuft unter stürmischen Erscheinungen. Am 2. Tage erscheinen an den Impfstichen kleine kugelige Vorwölbungen, welche durch Epithelwucherung bedingt sind und perlschnurartig hintereinandergereiht stehen. Schon bemerkt man eine leichte perikorneale Injektion. Am 3. oder 4. Tage werden die inzwischen noch gewachsenen Epithelverdickungen abgestoßen und es kommt zur Geschwürsbildung, welche mit Korneatrübung einhergeht. Dazu hat sich noch eine Konjunktivitis gesellt. Diese Geschwürsbildung und Trübung schreitet immer fort, so daß die Geschwüre sehr ausgedehnt werden und die ganze Hornhaut infolge der starken Trübung diffus milchig-weiß aussieht. Dabei wird die Konjunktivitis auch intensiv und verursacht starke Hyperämie und Anschwellung, starke fibrinöse-eiterige Sekretion und oft Ektropium der Lider. Diese heftigen Symptome dauern bis zum 8. oder 9. Tage, um dann allmählich abzuklingen und in 3—4 Wochen in Heilung überzugehen.

Wenn man eine weniger virulente oder eine verdünnte Lymphe zur Impfung benützt, was bei der vorliegenden Arbeit

meistens der Fall war, so verzögert sich das Eintreten der obengenannten Veränderungen. Ich habe in der Regel beobachtet, daß die Kornea am 3. oder 4. Tage, eventuell noch später, je nach der Virulenz bzw. der Verdünnung, hier und da fazettiert aussieht und im weiteren Verlauf in Geschwürsbildung verfällt. Alle anderen Symptome verlaufen hierbei milder. Auf Guarnierische Körperchen habe ich bei verschiedenen Tieren in Schnitt- und Ausstrichpräparaten untersucht und ihr regelmäßiges Vorkommen bei positiven Impfeffekten festgestellt.

Ferner hatte ich Gelegenheit, in gleicher Weise auch Augen von Meerschweinchen zu impfen. Dabei zeigte es sich, daß immer die ganze Kornea trüb wurde und Unterschiede der Reaktionsstärke kaum bemerkt werden konnten, woran wahrscheinlich die Kleinheit der Kornea und vielleicht auch die stärkere Empfindlichkeit die Schuld trug. So habe ich Meerschweinchen zu Untersuchungszwecken ungeeignet gefunden und mich nur auf eine einzige Versuchsreihe (Tab. V) beschränkt.

Für die Korneaimpfungen wurde in der Regel verdünnte Lymphe (1:10, 1:50, 1:100) verwendet, nur ausnahmsweise eine stärkere Konzentration.

3. Der virulizide Versuch.

In einer größeren Zahl von Fällen wurde die virulizide Kraft des Serums gegenüber dem verwendeten Virus geprüft. Bezüglich der Beschreibung dieses Verfahrens verweise ich, um Wiederholungen zu vermeiden, auf das Kapitel V, wo sich die Einzelheiten der Technik, im Zusammenhang mit der bisherigen Literatur, angegeben finden.

III. Ergebnis der zweiten Impfung.

Wird ein Kaninchen einmal in die Haut oder in das Auge geimpft, so wird das betreffende Organ, also die gesamte Hautdecke oder das Auge, nach etwa einer Woche immun und reagiert auf die 2. Impfung nicht mehr. Diese Tatsache steht heutzutage fest und ist keiner weiteren Erörterung mehr bedürftig. Da ich aber im Laufe meiner Untersuchungen vielfach ebenfalls Gelegenheit hatte, ihr die einwandfreie Bestäti-

gung zu geben, so möchte ich hier die diesbezüglichen Ergebnisse kurz erwähnen.

1. Schützt kutane Infektion gegen die folgende kutane Infektion? (Tabelle I.)

Früher gab es in bezug auf diese Frage zwar auch widersprechende Befunde, doch kam man bald zu einem übereinstimmenden Resultat, so daß sie nun schon lange als in positivem Sinne entschieden angesehen werden kann.

Zur 2. Impfung habe ich anfangs absichtlich die bei der 1. Impfung verschonten Stellen gewählt. Da ich mich jedoch bald überzeugte, daß das Resultat der 2. Impfung regelmäßig negativ ausfiel, ganz unabhängig von der Impfstelle, so habe ich später auf diese Verhältnisse keine Rücksicht mehr genommen. Die Erstimpfung erfolgte bei allen Tieren mit

Tabelle I.
Prüfung auf Hautimmunität nach kutaner Impfung.

Prot.-No. d. Kaninchen	Farbe	Gewicht	1. Impfung				2. Impfung				Reaktion
			Datum	Impf- material	Größe der Impf- fläche	Reak- tion	Datum	Intervall der 1. u. 2. Impfung	Impf- material		
1	weiß, schwarz gefleckt	1385	9. VII. 1919	unver- dünnte Glyzerin- lymphe	ca. 56 qcm	Pustel- bildung	14. X. 1919	96 Tage	1:3 ver- dünnte Glyzerin- lymphe	Keine Pustel- oder Papeleruption, nur Rötung	
2	braun	1995	dgl.	dgl.	„ 64 „	dgl.	16. „ „	98 „	dgl.		
5	silbergrau	1267	30. X. „	„	„ 49 „	„	23. I. 1920	84 „	unver- dünnte Glyzerin- lymphe		
6	weiß, schwarz gefleckt	1277	dgl.	„	„ 91 „	„	4. II. „	96 „	dgl.		
15	braun	2286	„	„	„ 91 „	„	dgl.	96 „	„		
71	weiß, schwarz gefleckt	2565	25. III. 1920	„	„ 65 „	Papel- eruption	1. XI. „	220 „	„		
72	dgl.	2560	dgl.	„	„ 65 „	Pustel- bildung	30. X. „	218 „	„		
101	schwarz	2362	28. VI. „	„	„ 50 „	dgl.	3. VIII. „	35 „	„		
102	braun	2574	8. VII. „	„	„ 50 „	„	dgl.	25 „	„		
107	schwarz	2175	22. VII. „	„	„ 60 „	„	12. VIII. „	20 „	„		
108	silbergrau	2613	dgl.	„	„ 60 „	„	3. „ „	11 „	„		
109	„	2708	„	„	„ 60 „	„	dgl.	11 „	„		

unverdünnter Lymphe, auch für die Nachimpfung wurde, mit Ausnahme von 2 Fällen, in denen ich eine Verdünnung (1:3) wählte, die konzentrierte Lymphe verwendet. Zu jedem Versuche wurde mindestens 1 Kontrolltier mitherangezogen.

Das Ergebnis (vgl. Tabelle I) ist klar und eindeutig. Die vorbehandelten Kaninchen, die sämtlich auf die 1. Infektion mit spezifischen Erscheinungen reagiert hatten, verhielten sich bei der Nachimpfung völlig refraktär. Dabei betrug der Zeitraum zwischen beiden Impfungen zum Teil mehr als 3 Monate, bei 2 Tieren sogar 218 bzw. 220 Tage. Es kann hinzugefügt werden, daß ein Kaninchen (No. 5) nach einem weiteren Intervall von 282 Tagen einer 3. Impfung mit unverdünnter Lymphe unterworfen wurde, wobei abermals jede Reaktion ausblieb (vgl. Tabelle X). Ganz gleich ging es mit einem anderen Tier (No. 15), welches 154 Tage nach der 2. Impfung eine 3. Impfung (unverdünnte Lymphe) ebenfalls mit negativem Ergebnis erhielt.

So sieht man, daß bei Kaninchen die durch Vakzination erworbene Hautimmunität 7 Monate und länger erhalten bleiben kann und selbst durch die vollvirulente Lymphe nicht gebrochen wird.

Der Termin des Eintretens der Immunität wird gewöhnlich auf 7—9 Tage nach der Impfung angegeben. Bei zwei Fällen, wobei ich am 12. Tage die Nachimpfung ausführte, erhielt ich ein vollkommen negatives Resultat, so daß ich mich von der bereits eingetretenen Immunität überzeugen konnte.

Schon hier sei darauf hingewiesen, daß auch die subkutane Impfung eine Hautimmunität hervorzurufen vermag. 3 Kaninchen, welche 0,75 ccm Lymphe in 5 subkutanen Injektionen erhalten hatten, reagierten auf die spätere kutane Infektion mit unverdünnter Lymphe völlig negativ (vgl. Tab. IV).

2. Schützt die Korneainfektion gegen die folgende Korneainfektion?

Die einmal mit Vakzine geimpfte Kornea wird, ganz gleich der Körperhaut, immun und verhält sich gegen die zweite Impfung refraktär. Diese Tatsache gilt ebenfalls schon seit langem als erhärtet. Deshalb übergehe ich die nähere Be-

Tabelle II.
Prüfung auf Korneaimmunität nach kornealer Impfung.

Protok.-No.	Gewicht	1. Impfung				2. Impfung				
		Datum	geimpfte Kornea	Impfmateri- al	Reaktion	Datum	Intervall der 1. u. 2. Impfung	Impfmateri- al	Reaktion	
4 1195	8. VII.	r.	$\frac{1}{50}$	Lympe	sehr starke Keratitis	6. XII.	150 Tage	$\frac{1}{1}$	Lympe	negativ
5 1267	„	l.	„	„	mäßige Ke- ratitis	30. X.	113 „	$\frac{1}{10}$	„	l. leichte Ke- ratitis r. starke Ke- ratitis
6 1277	„	r.	„	„	starke Ke- ratitis	„	113 „	$\frac{1}{10}$	„	r. leichte Ke- ratitis l. starke Ke- ratitis
11 1902	15. X.	l.	„	„	sehr starke Keratitis	7. I.	83 „	$\frac{1}{1}$	„	l. negativ r. starke Ke- ratitis
12 1415	„	r. u. l.	„	„	starke Ke- ratitis	„	83 „	$\frac{1}{1}$	„	r. u. l. negativ
13 1316	„	l.	„	„	sehr starke Keratitis	„	83 „	$\frac{1}{1}$	„	l. negativ r. starke Ke- ratitis
25 1805	25. XI.	r. u. l.	„	„	r. schwache Keratitis l. mäßige Ke- ratitis	6. IV.	132 „	$\frac{1}{50}$	„	r. schwache Keratitis l. negativ
58 1752	2. III.	r. u. l.	„	„	starke Ke- ratitis	30. VII.	149 „	$\frac{1}{50}$	„	r. u. l. negativ

schreibung der Versuche und verweise nur auf die Tabelle II. Es geht daraus hervor, daß die erste Impfung, stets mit einer Lymphverdünnung $\frac{1}{50}$ vorgenommen, in allen Fällen eine deutliche, meist starke Reaktion zur Folge hatte. Demgegenüber fiel die Nachimpfung, 83–150 Tage später, mit unverdünnter oder verdünnter (1:10, 1:50) Lympe entweder gänzlich negativ aus oder gab nur einen abgeschwächten Impfeffekt in Form leichter Keratitis. In dem letzteren Falle war also die Immunität keine vollkommene und absolute, und es verdient betont zu werden, daß diese Erscheinung (No. 5, 6, 25) weder durch die Länge des Intervalls zwischen erster und zweiter Impfung noch durch die Virusdosis bei der Nachimpfung erklärt werden kann. Die anderen Tiere, die zum Teil wesentlich später (No. 4, 58) oder mit stark konzentrierter Lympe (No. 4, 11, 12, 13) der Kontrollimpfung unterworfen

wurden, blieben glatt, und eigentümlicherweise betraf eine — wenn auch milde — Reaktion nur Fälle, in denen stärker verdünnte Lymphe (1:10, 1:50) verwendet worden war. Auch der Grad der primären Impfreaktion scheint nicht allein entscheidend zu sein, denn eines der auf die Nachimpfung leicht reagierenden Tiere (No. 6) hatte im Anschluß an die erste Infektion gerade eine starke Keratitis bekommen. Gins vertritt die Ansicht, daß eine schwache Immunität durch sehr virulente Lymphe gebrochen werden könne. Inwieweit das für unseren Fall zutrifft, bleibe zunächst dahingestellt. Diese Verhältnisse sollen bei Untersuchung der Beziehungen der Kornea- zur allgemeinen Immunität später erörtert werden. Jedenfalls ist das eine richtig und bei allen diesen Versuchen zu berücksichtigen, daß der Virulenzgrad und die Virulenzunterschiede der verwendeten Lymphen einen nicht leicht zu bestimmenden Einfluß ausüben. Wir haben trotzdem von einer besonderen Virulenzprüfung unserer Lymphe im Einzelfall abgesehen.

3. Erzeugt punktförmige Impfung an der Kornea totale Immunität derselben?

v. Prowazek (10), welcher die histogene Theorie der Vakzineimmunität begründet hat, behauptete seinerzeit, daß die Immunität der Kaninchenkornea rein lokal und histogen sei und daß sogar die entfernteren, von der ersten immunisierenden Reaktion nicht betroffenen Stellen der gleichen Kornea in einzelnen Fällen auf die Einbringung des Vakzinevirus reagieren. Man muß bei dieser auffallenden Angabe die quantitativen Verhältnisse der Immunität im Auge behalten und an die Möglichkeit denken, daß, wenn die erzeugte Immunität nur schwach ist, sie unter Umständen durch eine zweite Impfung mit hochvirulenter Lymphe gebrochen werden und eine leicht positive Reaktion eintreten lassen kann. Solche Beobachtungen habe ich bei anderen Versuchen sehr häufig gemacht und deswegen mich veranlaßt gesehen, die Angabe von v. Prowazek einer Nachprüfung zu unterziehen.

Die erste Impfung wurde ungefähr in der Mitte zwischen dem Korneazentrum und dem unteren bzw. oberen Kornearand in Kreuzform von 1 mm Länge vorgenommen. Nach

Tabelle III.

Prüfung auf Totalimmunität der Kornea nach punktförmiger kornealer Impfung.

Prot.-No.	Gewicht	1. Impfung				2. Impfung			
		Datum	Impfstelle	Impfmateri- al	Reaktion	Datum	Impfstelle	Impfmateri- al	Reaktion
74	1502	14. IV.	r. u. l. unt. Partie	$\frac{1}{50}$ Lymphe	r. u. l. kleines Ge- schwür, leichte, lokale Trübung, leicht. Injektion	27. V	r. u. l. ob. Partie	$\frac{1}{50}$ Lymphe	r. u. l. negativ
76	1973	„	dgl.	„	dgl.	„	dgl.	„	dgl.
77	1820	„	r. u. l. ob. Partie	„	l. „ r. nicht ange- gangen	„	r. u. l. unt. Partie	„	l. negativ r. Geschwür, Trü- bung, mäßige konjunktivale Injektion

dem Verschwinden der akuten Erscheinungen wurde die zweite Impfung zwischen dem oberen bzw. unteren Kornea-
rand und dem Korneazentrum ausgeführt.

Die Resultate der Nachimpfung an 5 Augen (vgl. Tab. III) sind sämtlich negativ ausgefallen, so daß man annehmen muß, daß auch durch einen sehr kleinen Impfeffekt die Immunisierung der ganzen Kornea erfolgt und solche Fälle, wie sie v. Pro w a z e k beschrieb, wohl sehr seltene Vorkommnisse sein dürften.

IV. Beziehung der Hornhaut zur allgemeinen Immunität.

Die Sonderstellung der Kornea bei der Vakzineimmunität der Kaninchen ist von vielen Autoren hervorgehoben und als eine sehr interessante, der Vakzine eigenartige biologische Erscheinung angesprochen worden. Es wurde zuerst 1903 von Paschen (6) experimentell festgestellt, daß kutan geimpfte Kaninchen für eine nachträgliche Korneaimpfung empfänglich bleiben und daß auch umgekehrt durch die Impfung einer Kornea weder eine Immunität der Haut noch eine solche der anderen Kornea erzielt werden kann. Weiter gelang es Kraus und Volk (8) 1906 zu zeigen, daß die Kornea der Kaninchen weder durch subkutane noch durch intraperitoneale, auch nicht durch intravenöse Injektion immun wird. Eigenartig verhält sich nach ihren Untersuchungen die Affenkornea, deren Immuni-

sierung zwar durch subkutane Injektion, nicht aber durch Hautimpfung manchmal gelingt.

v. Prowazek (10) fand, daß das Kammerwasser vakzinierter Kaninchen auf aktive Lymphe nicht virulizid wirkt, und so war auch er der Ansicht, daß die allgemeine Immunität nicht auf die Kornea übergeht. Ferner konstatierte er, daß man ein Kaninchen, dem das eine Auge mit Erfolg geimpft wurde, kutan oder korneal (am anderen Auge) in positivem Sinne vakzinieren kann, während nach der Impfung des einen Ohres nach 15 Tagen das andere Ohr nicht mehr infizierbar ist. Süpfle (14) 1909 sprach sich ebenfalls auf Grund seiner Experimente entschieden für diese Sonderstellung der Kaninchenkornea aus. Somit schien die von Paschen begründete Anschauung zunächst durchaus zu Recht zu bestehen und durch die Nachprüfungen übereinstimmend bestätigt zu sein.

Im Gegensatz zu den bisher genannten Autoren vertrat nun aber 1910 Grüter (12) den Standpunkt, daß auch die Kaninchenkornea an der allgemeinen Vakzineimmunität Anteil nimmt. Er immunisierte Kaninchen durch mehrmalige subkutane oder intravenöse Injektionen bzw. durch ausgedehnte kutane Impfung. Zur Korneaimpfung benutzte er dann stark (1:1000) verdünnte Lymphe und wies den wesentlichen Unterschied des klinischen Verlaufes zwischen den immunisierten Tieren und Kontrollen nach, so daß er auf eine partielle Korneaimmunität schließen konnte. Süpfle und Eisner (5) schlossen sich teilweise dieser Meinung an, behaupteten aber, durch die gewöhnliche, regelrechte Kutaninfektion komme keine Korneaimmunität zustande. Hingegen hatte Bélin (55) beobachtet, daß nach ausgiebiger Hautimpfung eine Immunität der Hornhaut eintrat. v. Prowazek (11) immunisierte zwecks Nachprüfung dieser Frage Kaninchen auf subkutanem, intraperitonealem und intravenösem Wege durch einmalige Infektion. Nach Feststellung der allgemeinen Immunität (Hautimmunität) impfte er, nach dem Intervall von höchstens 7 Wochen, mit der unverdünnten Lymphe die Kornea, und fand jedesmal eine starke Reaktion mit Auftreten von Guarnierischen Körperchen. Bei den bereits einmal mit dem virulenten Material geimpften Augen konnte er diese Körperchen bei Nachimpfung nicht mehr finden. v. Prowazek

bestreitet demgemäß nach wie vor einen Zusammenhang zwischen Haut- und Korneaimmunität.

Gins (1) fand 1916 auf Grund umfangreicher Untersuchungen, daß die Immunität der Hornhaut später als diejenige der Haut auftritt und abhängig ist von der Menge der Antikörper im Organismus. Auf diese Tatsache Rücksicht nehmend, konnte er das Zustandekommen der Korneaimmunität nach der Kutanimpfung oder der intravenösen Injektion und umgekehrt die der Hautimmunität nach der virulenten Korneaimpfung nachweisen.

Wir sehen also, daß die neueren Forschungsergebnisse uns zwingen, die früheren Anschauungen einer Revision zu unterziehen, indem die Kornea mehr oder weniger an der allgemeinen Immunität beteiligt zu sein scheint. Immerhin bedarf diese Frage entschieden noch weiterer experimenteller Klärung, weil auch da, wo sich bei den Autoren prinzipielle Uebereinstimmung findet, über viele wichtige Einzelheiten die Angaben doch zum Teil weitgehend differieren.

Durch das Studium der einschlägigen Arbeiten wird man jedenfalls gewisser Versuchsbedingungen inne; diese sind:

- 1) möglichst kräftige Immunisierung des Organismus, wie alle Autoren es empfehlen;
- 2) mehr oder weniger starke Verdünnung der Lymphe für die folgende Korneaimpfung, wie Grüter und Süpfle und Eisner betonen, und
- 3) ein gewisser Zeitabstand zwischen dem Immunisierungsverfahren und der Prüfung der Korneaimmunität, wie Gins zuerst fand.

Diese letzte Bedingung von Gins scheint die Hauptrolle zu spielen; denn seine Resultate sind am meisten einheitlich, obgleich er sich zur Korneaimpfung einer viel weniger verdünnten Lymphe bedient hat.

1. Schützt die kutane (subkutane) Infektion gegen die folgende Korneainfektion?

Die Tabelle IV umfaßt diesbezügliche Versuche an Kaninchen. Fast alle Tiere habe ich mit kutaner Impfung auf einer Fläche von ca. 60 qcm immunisiert. Nur bei 3 Tieren (No. 96, 97, 98) wurden subkutane Injektionen vorgenommen.

Tabelle IV.
Prüfung auf Korneaimmunität nach kutaner (subkutaner) Impfung.

Prot.-No.	Gewicht	Erstimpfung (kutan)	Resultat	Zeitabstand bis zur Nach- impfung	Nachimpfung (Kornea)	Resultat	Bemerkung
1 1385	9. VII.	$\frac{1}{10}$ Gly- zerinlymphe	Pustelbildung	96 T.	14. X. $\frac{1}{10}$ Gly- zerinlymphe in r. Kornea, Haut $\frac{1}{8}$ Lymph	starke Keratitis, Verlauf kurz, Haut nichts	völlige allgemeine Immunität, An- deutung v. Horn- hautimmunität
2 1995	9. VII.	dgl.	dgl.	98 „	16. X. $\frac{1}{10}$ Gly- zerinlymphe in r. Kornea, $\frac{1}{8}$ Lymph in die Haut	starke Keratitis, Verlauf kurz, Haut negativ	dgl.
15 2286	30. X.	dgl.	Pustelbildung	201 „	19. V. $\frac{1}{50}$ Gly- zerinlymphe in r. Kornea	keine Reaktion	Hornhautimmuni- tät
4. II.	dgl.	keine Reaktion	104 „				
71 2565	25. III.	dgl.	Pustelbildung	62 „	27. V. $\frac{1}{50}$ Gly- zerinlymphe in beide Kornea	leichte Keratitis, schnell geheilt	deutliche Horn- hautimmunität
72 2560	25. III.	dgl.	dgl.	62 „	27. V. dgl.	keine Reaktion	Hornhautimmuni- tät
73 2095	25. III.	dgl.	dgl.	24 „	19. IV. dgl.	mäßige Keratitis	schwache Horn- hautimmunität
101 2362	28. VI.	dgl.	Pustelbildung	133 „	9. XI. Hornhaut	Kornea u. Haut	völlige allgemeine
3. VIII.	dgl.	keine Reaktion	97 „		r. $\frac{1}{50}$ Lymph, l. $\frac{1}{100}$ „ Haut $\frac{1}{1}$ „	keine Reaktion	Immunität und Hornhautimmu- nität
102 2574	8. VII.	dgl.	Pustelbildung	123 „	9. XI. dgl.	dgl.	dgl.
3. VIII.	dgl.	keine Reaktion	97 „				
107 2175	22. VII.	dgl.	geringe Pustel- bildung	108 „	9. XI. dgl.	Hornhaut	völlige allgemeine
12. VIII.	dgl.	keine Reaktion	88 „			schwache Kera- titis, Haut ne- gativ	Immunität, mä- ßige Hornhaut- immunität
108 2613	22. VII.	dgl.	Pustelbildung	109 „	9. XI. dgl.	Kornea u. Haut	völlige allgemeine
3. VIII.	dgl.	keine Reaktion	97 „			keine Reaktion	Immunität und Hornhautimmu- nität
109 2708	22. VII.	dgl.	Pustelbildung	109 „	9. XI. dgl.	dgl.	dgl.
3. VIII.	dgl.	keine Reaktion	97 „				
110 2815	22. VII.	dgl.	Pustelbildung	109 „	9. XI. dgl.	dgl.	dgl.
		(subkutan)					
96 2760	12. VI. – 10. VIII.	im ganzen 0,75 cem Lymph in 5 Injektionen	—	128 T.	19. X. Hornhaut r. $\frac{1}{50}$ Lymph, l. $\frac{1}{100}$ „ Haut $\frac{1}{1}$ „	beiderseits mä- ßige Keratitis, Haut negativ	völlige allgemeine Immunität, schwache Horn- hautimmunität
97 2615	dgl.	—	—	128 „	19. X. dgl.	r. negativ, l. mä- ßige Keratitis, Haut negativ	dgl.
98 2335	dgl.	—	—	65 „	17. VIII. dgl.	r. starke Kera- titis, l. negativ, Haut negativ	dgl.

Auch intravenöse Injektionen hatte ich versucht, leider aber vertrugen alle diese Kaninchen (7) die kleine Menge Lymphe von 0,2 ccm nicht und gingen meistens schon nach der ersten, einige andere nach der zweiten Injektion zugrunde, ausnahmslos unter den Erscheinungen des Marasmus. So konnte ich nicht umhin, auf die intravenöse Immunisierung zu verzichten. Bei der Nachimpfung, ob es sich um die Hornhaut handelte oder um die Haut, wurden auch bei dieser Versuchsreihe stets gleichzeitig Kontrollimpfungen an normalen Tieren ausgeführt, die sämtlich stark positiv ausfielen. Im Anfang habe ich für die Nachimpfung nur $\frac{1}{10}$ verdünnte Lymphe verwendet; da aber dieses Virus vielleicht noch zu konzentriert war und mit der Möglichkeit gerechnet werden mußte, daß eine schwache Immunität durch zu starke Lymphe gebrochen und ihre Erkennung dadurch erschwert würde, so habe ich später die Verdünnung bis $\frac{1}{50}$ und $\frac{1}{100}$ erhöht. Als Intervall zwischen der Erst- und Nachimpfung habe ich nach Gins fast stets 2 Monate und mehr genommen. Bei einer Reihe von Tieren war inzwischen noch eine zweite Kutanimpfung vorgenommen worden, die durchweg völlig reaktionslos verlief, also das Bestehen einer ausgesprochenen Hautimmunität bestätigt hatte. Außerdem wurde zu gleicher Zeit mit der Nachimpfung an der Kornea in jedem Falle auch eine kutane Kontrollimpfung ausgeführt. Da diese letztere bei sämtlichen Tieren wirkungslos blieb, war damit der Beweis erbracht, daß die Tiere im Augenblick der kornealen Infektion eine starke Hautimmunität besaßen.

Hinsichtlich des Verhaltens der Kornea bei der Nachimpfung lassen sich meine Ergebnisse in zwei Gruppen scheiden, indem entweder jede Reaktion ausblieb oder aber eine mehr oder weniger starke Keratitis auftrat. Im ganzen haben von meinen kutan immunisierten Kaninchen 7 auf die korneale Infektion gar nicht reagiert, die übrigen 5 zeigten spezifische Veränderungen. Ueber die mit Keratitis verlaufenen Fälle seien hier noch einige Bemerkungen gemacht. In der Regel stellte sich die Reaktion bei den vorbehandelten Tieren später als bei den Kontrolltieren ein und war weiterhin meistens durch leichteren und schnelleren Verlauf gekennzeichnet. Bei No. 1 und 2 hatte sich zwar eine ziemlich heftige Keratitis entwickelt, aber ungeachtet dieser Intensität

der Erscheinungen heilte der Prozeß viel schneller ab als bei den Kontrolltieren. Es geht daraus jedenfalls hervor, daß auch in den positiv reagierenden Fällen ein gewisser Grad von Hornhautimmunität vorhanden war. Diese schwache Immunität reichte nicht aus, um jede Reaktion zu verhindern, hat aber unzweifelhaft den Verlauf der Infektion beeinflußt und gemildert.

Daß der Grad der allgemeinen bzw. Hautimmunität einen entscheidenden Einfluß auf das Zustandekommen der Hornhautimmunität ausübt, ist ja eigentlich von vornherein anzunehmen und scheint auch aus meinen Beobachtungen hervorzugehen. Kaninchen No. 107, 108, 109 und 110 wurden an einem Tage unter gleichen Bedingungen kutan geimpft. Bei der Reaktion war zu bemerken, daß No. 107 eine deutlich geringere Pusteleruption als die anderen drei bekommen hatte. Eine nach einiger Zeit vorgenommene zweite Kutanimpfung hatte negatives Ergebnis. Nach etwa 4 Monaten wurden dann alle 4 Tiere, wieder an einem Tage, unter ganz gleichen Bedingungen an der Kornea geimpft. No. 107 bekam an beiden Augen leichte Keratitis, während die 3 anderen keine Reaktion zeigten. Die mangelhafte Pusteleruption bei No. 107 war also ausreichend gewesen, um eine Hautimmunität zu bewirken, hatte aber für das Zustandekommen der Hornhautimmunität nicht ganz genügt. Durch die Nachimpfung trat der Unterschied des Immunitätsgrades gegenüber den anderen Tieren deutlich zutage.

Seinerzeit behaupteten Süpfle und Eisner (5), daß man nur durch die intravenöse oder subkutane Injektion, nicht aber durch kutane Impfung die Hornhautimmunität hervorrufen könne. Diese Behauptung ist durch die Versuche von Bélin (55), Gins (1) und nun auch durch meine eigenen als nicht zutreffend erwiesen worden. Immerhin zeigt diese Verschiedenheit im Ausfall der Versuche, wie schwierig sich die Hornhautimmunität auf allgemeinem Wege erzielen läßt.

Die Kaninchen No. 96, 97, 98 wurden durch subkutane Injektionen mit im ganzen je 0,75 ccm Lymphe vorbehandelt. Hinsichtlich der Technik sei bemerkt, daß die Injektionsstelle vor der Einspritzung und nachher mit Alkohol gründlich abgerieben wurde, um eine kutane Infektion zu vermeiden.

Dieses Verfahren hat sich als ausreichend erwiesen, denn in keinem einzigen Falle ist es bei den subkutan geimpften Tieren zu Erscheinungen an der Haut (Pusteleruption usw.) gekommen. Durch Nachimpfung der Haut konnte man die völlige allgemeine Immunität (Hautimmunität) nachweisen, dagegen entwickelte sich an der Kornea bei allen 3 Tieren eine leichte oder mäßig starke Keratitis, in 2 Fällen freilich nur an einem Auge; das andere reagierte nicht. Unzweifelhaft war also auch in diesen Versuchen eine gewisse Hornhautimmunität nachweisbar. Im Vergleich mit No. 101, 102, 108, 109, 110, welche durch kutane Impfung immunisiert worden waren und auf Nachimpfung gar nicht reagiert hatten, besaß aber die Kornea der drei subkutan geimpften Kaninchen

Tabelle V.
(Meerschweinchenversuch.)
Prüfung auf Korneaimmunität nach subkutaner Impfung.

No.	Gewicht	Erstimpfung (subkutan)	Resultat	Zeitabstand bis zur Nach- impfung ¹⁾	Nach- impfung (Kornea)	Resultat	Bemerkung
1	540	20. V.—10. VI. im ganzen 0,45 Lymph in 3 In- jektionen	—	11 T.	21. VI. $\frac{1}{50}$ Lymph	starke Kera- titis ²⁾	Kornea- immunität nur an- gedeutet
2	615	—	—	11 „	—	—	—
3	495	20. V.—9. VIII. 1,35 Lymph in 6 Injektionen	—	93 „	10. XI. $\frac{1}{50}$ Lymph	„	„
4	595	10. VI.—9. VIII. 1,0 Lymph in 5 Injektionen	—	93 „	—	„	„
5	595	—	—	93 „	—	„	„
6	610	—	—	93 „	—	„	„
7	530	—	—	93 „	—	„	„
8	580	—	—	93 „	—	„	„

1) Der Zeitabstand ist vom Abschluß der Vorbehandlung an gerechnet.

2) Bei Versuch No. 1 und 2 war die Keratitis beim Kontrolltier etwas stärker und länger anhaltend. Bei den anderen 6 Tieren waren die Symptome im Vergleich mit den Kontrolltieren (2 Kontrolltiere) deutlich leichter, aber in bezug auf ihre Dauer konnte man fast gar keinen Unterschied merken.

(96—98) nur eine schwache Immunität. Diese Beobachtung steht mit der allgemeinen Erfahrung im Einklang, daß sich die regelrechte Hautimpfung, bei welcher das Antigen zu stärkerer Vermehrung gelangt, besser bewährt als die subkutane Methode. Selbstverständlich ist, daß die Größe der Impffläche sowie die Zahl und Dosis der Injektionen auch von Bedeutung sind. In meinem Falle hat sich gezeigt, daß selbst die einmalige Impfung einer etwa 60 qcm großen Hautfläche zur Immunisierung der Kornea wirksamer ist, als die fünfmalige subkutane Injektion einer im ganzen 0,75 ccm betragenden Lymphmenge.

Ich habe zu dieser Frage auch mit Meerschweinchen Versuche angestellt, wie in Tabelle V gezeigt wird. Hier habe ich mich ausschließlich der subkutanen Injektion bedient. Bei der meist 3 Monate später vorgenommenen Nachimpfung konnte nur eine Andeutung von Hornhautimmunität festgestellt werden. Diese Versuchsreihe läßt sich vielleicht ebenfalls als Beweis dafür betrachten, daß bei der Vakzination die subkutane Impfung keine starke Wirkung entfaltet.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor:

1) Die durch kutane Impfung erzeugte Immunität erstreckt sich auch auf die Hornhaut.

2) Die Hornhautimmunität ist in diesem Falle von schwankender Stärke. Sie kann so vollständig sein, daß die Hornhautimpfung völlig reaktionslos verläuft, äußert sich in anderen Fällen aber nur darin, daß die Kornea auf die Impfung in verzögerter und abgeschwächter Form reagiert.

3) Der Grad der allgemeinen Immunität (Hautimmunität) scheint für die Hornhautimmunität von Bedeutung zu sein.

4) Durch kutane Impfung läßt sich die Hornhautimmunität besser erzielen als durch subkutane.

2. Schützt die Korneainfektion gegen die kutane Infektion?

Bei dieser Untersuchung muß man immer auf die Tatsache Rücksicht nehmen, daß die Konjunktiva, welche ja bei Keratitis stark entzündlich wird, gleichzeitig mitinfiziert werden kann. So sind die Fälle, wo an der Konjunktiva verdächtige

Tabelle VI.
Prüfung auf Hautimmunität nach Korneaimpfung.

Prot.-No.	Gewicht	Erstimpfung (Kornea)	Resultat	Zeitabstand bis zur Nach- impfung	Nach- impfung (Haut)	Resultat	Bemerkung
5 1267		8. VII. l. $\frac{1}{50}$ Lymphe	mäßige Kera- titis	113 T.	30. X. $\frac{1}{1}$ Lymphe	Pustel- bildung	keine allgemeine Immunität
6 1277		8. VII. r. $\frac{1}{50}$ Lymphe	starke Kera- titis	113 „	dgl.	dgl.	dgl.
24 1930		25. XI. r. u. l. $\frac{1}{50}$ Lymphe	dgl.	70 „	4. II. dgl.	negativ	völlige allgemeine Immunität
58 1752		2. III. r. u. l. $\frac{1}{50}$ Lymphe	dgl.	149 „	30. VII. dgl.	„	dgl.
113 1638		7. IX. r. $\frac{1}{50}$ Lymphe	dgl.	77 „	24. XI. r. Fl. $\frac{1}{50}$ Lymphe, l. Flanke $\frac{1}{1}$ Lymphe	r. Flanke ne- gativ, l. Flanke schwach pos.	deutliche allge- meine Immunität

Erscheinungen auftreten, natürlich nicht beweiskräftig und demnach auszuschließen. Meine eigenen Untersuchungen zu dieser Frage sind nicht zahlreich, und die Resultate erscheinen auf den ersten Blick untereinander nicht übereinstimmend. Die kutan nachgeimpften Tiere haben teils keine Spur von Reaktion gezeigt, teils mit typischer Pustelbildung reagiert. Und doch ergibt sich bei näherer Betrachtung ein einheitliches Verhalten. Wenn man ins Auge faßt, daß eine schwache Immunität durch Impfung mit sehr stark virulenter Lymphe unter Umständen gebrochen werden kann, so könnte man die Pustelbildung bei No. 5 und 6 eben für einen solchen Fall halten, weil die betreffenden Tiere nur einseitig am Auge geimpft worden waren und weil zur Nachimpfung unverdünnte Lymphe verwendet wurde. In dieser Hinsicht scheint mir das Verhalten des Tieres No. 113 besonders lehrreich, wenn man das Resultat der Nachimpfung mit unverdünnter Lymphe auf der einen und mit $\frac{1}{50}$ verdünnter Lymphe auf der anderen Seite des Tieres näher betrachtet. Hier ist die Impfreaktion bei dem gleichen Tiere verschieden, je nach der für die Kutaninfektion verwendeten Dosis: die rechte Flanke ($\frac{1}{50}$ Lymphe) verhält sich völlig refraktär, die linke Flanke (unverdünnte Lymphe) zeigt deutliche, wenn auch abgeschwächte Hautreaktion (Papel-

34*

bildung). Da, wo aber durch beiderseitige Korneaimpfung und Keratitis von vornherein eine stärkere Immunität geschaffen war, blieb, wie No. 24 und 58 lehren, die kutane Nachimpfung selbst mit unverdünnter Lymphe unwirksam.

Bei dieser Betrachtungsweise enthalten meine Untersuchungsergebnisse keine Widersprüche. Man kann sie vielmehr als vollkommen einheitlich annehmen, indem sie die Ansicht von Gins bestätigen, daß von der Kornea aus auch eine allgemeine Immunität entstehen kann. Diese Immunität ist stark ausgeprägt, sobald eine beiderseitige Keratitis vorangegangen ist, sie ist schwächer im Anschluß an eine nur einseitige Keratitis.

3. Schützt Infektion einer Kornea auch die andere? (Tabelle VII.)

Meine diesbezüglichen Untersuchungen haben, wie die Tabelle VII zeigt, eindeutig zu einem negativen Ergebnis geführt. Dieses Resultat ist auffallend. Wir haben soeben gesehen, daß die allgemeine Immunität auch von der Kornea aus erzielt werden kann, und fernerhin gefunden, daß umgekehrt bei kutan immunisierten Tieren nach und nach eine Korneaimmunität zustande kommt. Von dieser Erfahrung aus müßte man schon erwarten, daß nach Impfung der einen Kornea mit der Zeit auch die andere immun werden könne. Wirklich konnte Gins (1) diese Möglichkeit experimentell erweisen. Wie ich schon früher bemerkt habe, ist jedoch ein hoher Immunitätsgrad notwendig, um bei allgemeiner Immunität auch eine erkennbare Korneaimmunität zustandekommen zu lassen, und das gleiche gilt für die allgemeine Immunität, welche von der geimpften Kornea aus ausgelöst wird. Somit sind auch die Bedingungen für den Uebergang der Immunität von der einen Kornea auf die andere gewiß erschwert, und man könnte sich fragen, ob in meinen Versuchen das völlige Versagen der wechselseitigen Korneaimmunisierung nicht vielleicht aus quantitativen Verhältnissen zu erklären sei. Also: Bestehen einer schwachen Immunität, die durch Verwendung einer hochvirulenten Lymphe gebrochen und damit verdeckt worden ist. Ich glaube nicht, daß eine solche Deutung ohne weiteres berechtigt ist. Nur bei 2 Kaninchen (No. 5 und 6)

Tabelle VII.
Prüfung auf Uebergang der Immunität von einer Kornea auf die andere.

Prot.-No.	Gewicht	Erstimpfung	Resultat	Zeitabstand bis zur Nach- impfung	Nachimpfung	Resultat	Bemerkung
5	1267	8. VII. l. $\frac{1}{50}$ Lymphe	mäßige Keratitis	113Tg.	30. X. r. $\frac{1}{10}$ Lymphe l. „ „	r. starke Kera- titis, l. schwache Keratitis	Immunität der r. Kor- nea nicht nachweis- bar
6	1277	dgl.	starke Keratitis	113 „	dgl.	dgl.	dgl.
11	1902	15. X. l. $\frac{1}{50}$ Lymphe	sehr starke Keratitis	83 „	7. I. r. $\frac{1}{1}$ Lymphe l. „ „	r. starke Kera- titis, l. negativ	„
13	1316	dgl.	dgl.	83 „	dgl.	dgl.	„
Junges 2		19. V. r. $\frac{1}{50}$ Lymphe	starke Keratitis	71 „	30. VII. r. $\frac{1}{50}$ Lymphe l. „ „	r. negativ, l. star- ke Keratitis	Immunität der l. Kor- nea nicht nachweis- bar
113	1638	7. IX. r. $\frac{1}{50}$ Lymphe	dgl.	77 „	24. XI. r. $\frac{1}{50}$ Lymphe l. „ „	r. negativ l. starke Kera- titis	dgl. durch Hautimpfung deutliche allgemeine Immunität nachge- wiesen

käme dieser Gesichtspunkt in Frage, denn es sind das die gleichen Tiere, die nach Impfung der Kornea auch keine deutliche allgemeine Hautimmunität erworben hatten (vgl. Tab. VI). Ueberdies hatte eines von ihnen (No. 5) auf die erste Kornea-impfung nur relativ schwach reagiert und demgemäß nicht einmal für diese Kornea sichere Immunität erlangt. Sonst aber finden wir in unseren Versuchen keinen bestimmten Anhaltspunkt für die oben angedeutete Auffassung. Die Tiere haben auf die erste Impfung mit starker oder sehr starker Keratitis reagiert, die Zeit bis zur Nachimpfung betrug 71 bis 113 Tage, die Infektion der anderen Kornea erfolgte zwar teils mit unverdünnter, teils aber auch mit stark verdünnter (1:50) Lymphe, und die erstgeimpfte Kornea, die zur Kontrolle auch bei der Nachimpfung immer wieder mitinfiziert wurde, erwies sich stets als immun, selbst gegenüber der konzentrierten Lymphe. Im Hinblick auf die von anderer Seite veröffentlichten positiven Befunde (Gins) läßt sich der Uebergang der Immunität von einer Kornea auf die andere nicht allgemein in Abrede stellen, er erfolgt nach meinen Beobachtungen aber,

wenn überhaupt, nur äußerst selten und schwer, jedenfalls wesentlich schwerer als der der Hautimmunität auf die Kornea und umgekehrt.

V. Serumveränderung durch die Vakzineimpfung.

Der Frage, ob der Organismus auf die Infektion mit Vakzinelymphe oder Variolavirus mit der Bildung spezifischer Antikörper reagiert, ist in vielfachen Untersuchungen und auf verschiedene Weise nachgegangen worden.

Präzipitinreaktion wurde zuerst von Tanaka (14) 1903 bei Menschen konstatiert und danach auch von Freyer (15), Casagrandi (16), Tomarkin und Suárez (18) und Torikata (66) u. a. bestätigt. Als Antigen wurde entweder filtrierte oder nicht filtrierte Lymphe oder auch Lymphextrakt verwendet. v. Prowazek bezweifelte demgegenüber, daß es sich bei den Beobachtungen um spezifische Präzipitation gehandelt habe, und v. Pirquets Versuche (19) fielen sogar negativ aus. Die Resultate und Deutung der Untersuchungen gehen also noch auseinander.

Ich habe auch diese Reaktion mit dem Serum kutan geimpfter Kaninchen versucht. Das Antigen bestand in einem Auszug der frischen Kuhlymphe, der durch gründliches Verreiben mit physiologischer Kochsalzlösung und folgende Filtration gewonnen wurde. Auch bei den stark virulizid wirkenden Seren konnte keine als positiv anzusehende Reaktion beobachtet werden. Meine Resultate waren also durchweg negativ.

Aehnlich liegen die Verhältnisse bezüglich des Nachweises von komplementbindenden Stoffen. Jobling (20) erhielt 1907 positive Komplementbindungsreaktion mit dem Serum vakzinierter Kälber. Dieses Resultat wurde von Casagrandi (17), Dahm (22) (Variola), Sugai (24) (Variola und Vakzine) und Beintker (26) (Variola und vakzinierte Kaninchen), also bei verschiedenen Versuchsobjekten konstatiert. Dagegen kamen Heller und Tomarkin (21) (vakzinierte Kälber), Bermbach (23) (vakzinierte Menschen und Kaninchen) und Moses (27) (Variola) zu negativen Ergebnissen. Während somit diese älteren Untersuchungen einander widersprechen,

haben die neueren Arbeiten, nämlich von Shiga und Kii (28) (Variola und vakzinierter Kälber), Hallwachs (29) (lapinierte Kaninchen), Kryloff (30) (Variola und Variolois), Bizzarri und Palmas (67) (Variola), Tessier und Gastinel (68) (Variola und Vakzine), Klein (70) (Variola), Konschegg (71) (Variola) und Habetin (72) (Variola), ausgenommen Arzt und Kerl (69) (Variola), alle die Frage einstimmig in positivem Sinne beantwortet. Es scheint, als spiele die Versuchstechnik, insbesondere die Wahl und Darstellung des geeigneten Antigens, eine ausschlaggebende Rolle (vgl. Klein, Konschegg und Habetin).

Von besonderem Interesse sind sodann die Untersuchungen auf Stoffe, welche, analog den bakteriziden Immunkörpern, auf das Virus abtötend wirken.

Dafür wurde zuerst die Methode der passiven Immunisierung angewandt.

Die ersten Versuche in dieser Richtung fielen bei den meisten Autoren, nämlich Chauveau (31), Raynaud (32), Janson (33), Cramer und Boyce (34), Landmann (35), Rembold (36), Beumer und Peiper (37) etc. völlig negativ aus. Auch die positiven Resultate, über die Straus, Chambon und Ménard (38) 1890 berichteten, wurden von Janson mit dem Einwand angefochten, daß es sich dabei nicht um eine passive Immunisierung, sondern im Gegenteil um aktive Immunität gehandelt habe.

Hlava und Honl (41) waren die ersten, welche 1895 im Blutserum eines wiederholt vakzinierter Kalbes eine gewisse Schutzkraft nachweisen konnten. Nächst ihnen gelang es 1896 Béclère, Chambon und Ménard (39), durch eine größere Versuchsreihe festzustellen, daß das Blutserum ausgiebig geimpfter Kälber mehr oder weniger immunisierende Eigenschaften besitzt. Immerhin war diese schützende Kraft des Serums von sehr geringem Grade: eine Serummenge von 1:100 Gewicht genügte kaum, um die weitere Entwicklung einer soeben erfolgten Impfung mit Vakzine vollständig zu kupieren.

Ganz im Einklang mit diesen Ergebnissen fand auch Zagari (42), daß sich im Blut von Pockenrekonvaleszenten

oder von Tieren, die mit Pockenmaterial mehrmals behandelt waren, Antikörper bilden, jedoch in zu kleiner Menge, um irgendeine therapeutische Wirkung auslösen zu können.

Während Tedeschi (43), sowie Chaumier und Rehns (44) wiederum zu negativen Resultaten kamen, konnte Risel (45) die positiven Ergebnisse von Béclère, Chambon und Ménard bestätigen. Nach seinen Beobachtungen soll indessen die Wirkung des Immunserums auf den Verlauf der Impfung keine ausgesprochene sein.

Aus allen diesen Angaben geht jedenfalls hervor, daß im Serum von vakzinierten bzw. variolisierten Individuen wohl Immunkörper auftreten, die sich aber mit der Methode der passiven Immunisierung nur schwer und nur unter günstigen Versuchsbedingungen nachweisen lassen. Deshalb erscheint diese Methode zum Studium der Frage wenig geeignet.

Ganz im Gegensatz zu diesen schwankenden Ergebnissen haben die Untersuchungen mittels des sogenannten „viruliziden Versuchs“ zu einem übereinstimmend positiven Resultat geführt, so daß man das Vorhandensein irgendwelcher auf das Virus der Lymphe abtötend wirkender Körper im Immunserum mit Sicherheit behaupten kann.

Der wesentliche Unterschied zwischen beiden Methoden besteht darin, daß bei dem viruliziden Versuch das Serum direkt zur Einwirkung auf das Vakzinevirus gebracht wird, indem man das Serum in vitro mit virulenter Lymphe vermischt. Die Verimpfung dieses Gemisches schaltet alle Einflüsse aus, die sonst, bei getrennter Verwendung in Form der passiven Immunisierung, von seiten des tierischen Organismus ausgeübt werden und das Resultat offenbar leicht trüben. Diese Art der Prüfung wurde zuerst 1892 von Sternberg (46) eingeführt und nachher von Kinyon (47) 1894 empfohlen. Aber erst durch die Arbeit von Béclère, Chambon und Ménard (40) gelangte die Methode zur vollen Würdigung. Die folgenden Untersuchungen anderer Autoren, nämlich Courmont und Montagard (48), Martius (49), Freyer (15), Risel (45), Süpfle (4), v. Prowazek (10) und Gins (1) sind ohne Ausnahme positiv ausgefallen, wodurch das beständige Vorkommen der Schutzstoffe und zugleich die Sicherheit dieser Methode bestätigt wurde.

Ehe ich auf meine eigenen Resultate eingehe, möchte ich über die Technik des viruliziden Versuchs einige Angaben vorausschicken. Daß das Mischungsverfahren im Vergleich mit anderen Methoden bei der Untersuchung auf Vakzineimmunität am sichersten ist, geht schon aus dem Gesagten zur Genüge hervor. Zwar läßt sich der Immunitätsgrad und die virulizide Kraft des Serums kaum so exakt bestimmen, wie etwa bei manchen Fällen antibakterieller Immunität, da ein schwankender Faktor in dem Charakter der Lymphe vorliegt, deren Virulenz man weder durch Kultur noch durch Tierpassage zu regulieren imstande ist. Vielleicht hilft die von Groth angegebene, neuerdings von Haendel, Gilde-meister und Schmitt (83) weiter studierte und empfohlene Methode der Virulenzbestimmung der Lymphe über die Schwierigkeiten hinweg. Dennoch lassen sich bei entsprechender Versuchsanordnung auch in quantitativer Beziehung befriedigende Resultate gewinnen. Ich habe mich bei den vorliegenden Untersuchungen hauptsächlich an die Angaben von Gins (1) gehalten. Die Versuchsanordnung gestaltete sich folgendermaßen:

Die gewöhnliche glyzerinierte Lymphe wird mit steriler physiologischer Kochsalzlösung $\frac{1}{50}$ verdünnt und sorgfältig vermischt, worauf man die Lymphe im Reagenzglas 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen läßt, damit die gröberen Gewebspartikelchen sich absetzen. Dann wird vom oberen Teil dieser Flüssigkeit ein kleines Quantum vorsichtig herauspipettiert und mit dem zu untersuchenden Serum gemischt. Die Lymphe, statt durch einfaches Sedimentieren, mittels Zentrifugierens von den groben Partikelchen zu befreien, habe ich im allgemeinen entbehrlich gefunden. Von Gins wird dieses Vorgehen, und zwar schon für die unverdünnte Lymphe, empfohlen, weil die etwa in der Lymphe zurückbleibenden Partikel von dem Immunserum nicht genügend durchdrungen werden können und manchmal das Resultat verwirren. Mir schien auf der anderen Seite die Gefahr vorzuliegen, durch Zentrifugieren die Lymphe zu stark zu klären und in ihrer Virulenz zu beeinträchtigen. Mit längerem Sedimentieren und vorsichtigem Abpipettieren habe ich ziemlich gleichmäßige Resultate erhalten und daher diesen Weg bevorzugt. Nur in

einigen Versuchen wurde von mir die Lymphe nach Verdünnung mit Kochsalzlösung auch zentrifugiert, speziell, wenn es sich um Sera von geringer Wirksamkeit handelte, doch habe ich keinen Unterschied gegenüber der Sedimentierung beobachtet. Den viruliziden Titer des Serums habe ich durch die Verwendung von Serumverdünnungen, und zwar $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$ zu erkennen versucht.

Nach meiner Erfahrung ist ein hochwertiges Immunserum fast ohne Ausnahme imstande, bis $\frac{1}{100}$ Verdünnung die $\frac{1}{50}$ Lymphe für die Kornea vollständig unwirksam zu machen.

Je 0,2 ccm der Serum- und Lympheverdünnung wird gut gemischt, 2 Stunden lang im Brutschrank (37°C) gehalten und dann in die Kaninchenkornea eingepflegt. Zur Kontrolle des Virus in der Lympheverdünnung diente ein gleichbehandeltes Gemisch von 0,2 ccm Lympheverdünnung und 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Gins hat zum Zweck der Kontrolle normales Serum benutzt. Da jedoch nach seinen Angaben die Unwirksamkeit des normalen Serums auf virulente Lymphe als sicher anzusehen ist, so habe ich anstatt des Normalserums in der Regel physiologische Kochsalzlösung verwendet. Uebrigens habe ich fast stets das Serum der Tiere vor der Impfung geprüft und dabei bestätigen können, daß normales Kaninchenserum eine virulizide Wirkung auf die Vakzinelymphe nicht ausübt. Außerdem haben mir auch die Fälle, in denen das Serum immuner Tiere ohne jeden Einfluß blieb, eine gewisse Kontrolle gewährt.

Die Tabelle auf p. 507 zeigt an einem Beispiel den Verlauf eines viruliziden Versuchs in übersichtlicher Form.

Die genaue Bestimmung dieser Reaktionsgrade stieß manchmal auf Schwierigkeiten, weil die Symptome nicht immer so regelmäßig und scharf abgegrenzt erscheinen und in ihrer Intensität gewisse Uebergangsformen aufweisen können. Immerhin hat sich die schematische Charakterisierung der Reaktionsstärke gut durchführen lassen. Die Stärke der viruliziden Kraft eines Immunserums läßt sich hiernach einigermaßen einschätzen, indem man die Resultate der einzelnen Serumverdünnungen mit dem der Kontrolle vergleicht und feststellt, bis zu welcher Verdünnung eine virulizide Einwirkung noch erkennbar ist.

Serum 0,2 ccm	Lymph 0,2 ccm	Bin- dungs- dauer	Geimpfte Hornhaut	Resultat	Bemerkung
$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{50}$	2 Stunden bei 37° C	Kaninchen No. 10 r. Kornea	—	Virulizide Kraft: stark
$\frac{1}{20}$	dgl.	dgl.	Kaninchen No. 10 l. Kornea	—	dgl.
$\frac{1}{100}$	„	„	Kaninchen No. 11 r. Kornea	+	mäßig
0,2 ccm physiolog. NaCl- Lösung	„	„	Kaninchen No. 11 l. Kornea	+++	.

Die Beurteilung und Aufzeichnung der an der Kornea beobachteten Reaktion ist nach dem folgenden Schema erfolgt:

- 1) „Negativ“ (—): keine nennenswerten Symptome.
- 2) „Schwach positiv“ (+): ganz kleines Geschwür oder Fazetten; geringe Trübung, schwache konjunktivale und perikorneale Injektion.
- 3) „Mäßig stark positiv“ (++): etwas größere Geschwüre, an den Geschwüren lokalisierte stärkere und mäßige Trübung, starke Injektion, vermehrte Sekretion.
- 4) „Stark positiv“ (+++): ausgedehnte Geschwüre, diffuse starke oder mäßige Trübung, starke Injektion, vermehrte fibrinös-eiterige Sekretion. Fälle, in denen die „stark positive“ Reaktion ungewöhnlich intensiv war und auch sehr lange andauerte, habe ich noch besonders gekennzeichnet (+++).

1. Ist die kutane Impfung mit spezifischer Serumveränderung verbunden?

Die Versuche, die in Tabelle VIII zusammengestellt sind, bedürfen einer näheren Betrachtung. Es sei von vornherein bemerkt, daß bei einer Reihe von Tieren die Prüfung des Serums nur einmal vorgenommen wurde, so daß die Entwicklung der spezifischen Blutveränderungen nicht immer bei dem gleichen Individuum verfolgt werden konnte. Zum Teil lag dies daran, daß die Tiere für weitere Impfungen verwendet werden sollten und daß zunächst ja nur die Frage in Betracht kam, inwieweit eine einzige Hautimpfung, die zu sicherer Immunität führt, die Entstehung virulizider Stoffe zur Folge hat; außerdem aber haben wir leider gerade in dieser Versuchsperiode viele Tiere infolge von Stallinfektionen verloren. Sodann befinden sich unter den in der Tabelle verzeichneten Kaninchen einige, die nicht eine reine Kutanimpfung erhalten

Tabelle VIII.

Prüfung des Serums kutan immunisierter Kaninchen auf virulizide Kraft.

Prot. No.	Gewicht	Datum der kutanen Impfung	Intervall zw. der Impfung und Blutentnahme	Virulizider Versuch			Virulizide Wirkung
				Immunserum + Lymphpe	Ergebnis an der Hornhaut	Kontrolle	
43	1698	17. I. $\frac{1}{1}$ Lymphpe	22 Tage	0,2 ccm $\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$	0,2 ccm $\frac{1}{50}$ dgl. + ++	+++	ziemlich stark
46	1465	23. I. $\frac{1}{1}$ Lymphpe	14 „	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$	„ + ++ ++++	+++	schwach
			61 „	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ —	+++	stark
24	1930	4. II. $\frac{1}{1}$ Lymphpe	3 Wochen	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ — +++	++	deutlich
49	2010	dgl.	26 Tage	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ ++ ++++	++++	angedeutet
1	1385	9. VII. $\frac{1}{1}$ Lymphpe	3 Monate	$\frac{1}{1}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$	„ +++ +++	+++	keine nennenswerte Wirkung
2	1995	dgl.	3 „	$\frac{1}{1}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$	„ +++ +++	+++	keine nennenswerte virulizide Wirkung
71	2665	25. III. $\frac{1}{1}$ Lymphpe (Augenimpfung negativ)	5 „	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ +++ +++	+++	schwach
			6 „	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ +++	+++	deutlich
72	2560	dgl.	5 „	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ +++	+++	„
			6 „	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ ++	+++	„
5	1267	30. X. $\frac{1}{1}$ Lymphpe (Kornea beiderseits geimpft)	14 Tage	$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$ $\frac{1}{400}$	„ — — + ++++	++	sehr stark
			10 Wochen	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$	„ ++ +++	+++	angedeutet
6	1277	dgl.	14 Tage	$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$ $\frac{1}{400}$	„ — — + ++	++	sehr stark
			12 Wochen	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	„ +++	+++	angedeutet
15	2286	30. X. $\frac{1}{1}$ Lymphpe (r. Kornea geimpft)	14 Tage	$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$ $\frac{1}{400}$	„ — — +++ ++	++	sehr stark
			13 Wochen	$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$	„ ++ ++	+++	schwach

hatten, sondern gleichzeitig von der Kornea des einen Auges bzw. beider Augen aus infiziert worden waren. Diese letzteren (No. 5, 6, 15) weichen also hinsichtlich der Versuchsbedingungen von den übrigen etwas ab und berühren schon die in dem nächsten Abschnitt zu erörternde Frage der spezifischen Serumwirkung nach kornealer Infektion und Immunität.

Alle Tiere hatten auf die kutane bzw. korneale Impfung in typischer Weise reagiert und, wie späterhin durch kutane (korneale) Nachimpfung konstatiert wurde, volle Immunität erworben. Die Prüfung auf Virulizidie wurde stets mit dem frischgewonnenen Serum ausgeführt.

Die Resultate sind nicht einheitlich. Immerhin gestatten sie gewisse Schlußfolgerungen. So geht zunächst daraus hervor, daß 2–4 Wochen nach der Hautimpfung gewöhnlich eine Virulizidie des Serums nachgewiesen werden kann (No. 43, 46, 49, 24). Die Serumverdünnungen 1:20 zeigen meist eine starke, zum Teil vollkommene Abtötungskraft, aber die weitergehenden Verdünnungen vermögen die Wirkung der Lymphe gar nicht oder nur unbedeutend abzuschwächen. Die virulizide Serumwirkung ist also nicht immer sehr ausgesprochen. Nur in einem Falle (No. 43) konnte eine energischere Abtötungskraft festgestellt werden. Auch wenn man berücksichtigt und sich immer wieder vor Augen hält, daß die Virulenz der Lymphe bei allen diesen Prüfungen einen schwankenden Faktor darstellt und daß bei Verwendung eines hochvirulenten Impfstoffes unter Umständen schwächere Serumwirkungen der Beobachtung entgehen, so beeinflußt das die Bedeutung der Ergebnisse nur wenig: Es ist eben zu einer Zeit, in der die Immunität schon zur vollen Entwicklung gelangt ist, nicht immer eine entsprechend hohe virulizide Fähigkeit des Serums vorhanden.

In einem späteren Stadium entwickeln sich die Dinge auch nicht ganz gleichmäßig. Hier haben wir in einem Falle (No. 46) eine erhebliche Steigerung der viruliziden Serumwirkung feststellen können, und zwar 2 Monate nach der Impfung; das Serum tötete noch in der Verdünnung 1:100 (mehr wurde nicht geprüft) das Virus völlig ab. Sonst aber war nach Verlauf einiger Monate das Verhalten ganz verschieden. Bei 2 Tieren (No. 1 und 2) äußerte das Serum eine recht geringe Wirksamkeit, während 2 andere Tiere

(No. 71 und 72) nach 5 und 6 Monaten eine immerhin deutliche Virulizidie noch zu erkennen gaben. Gleichwohl will es scheinen, als ob die viruliziden Stoffe in dem Blute der durch einmalige kutane Infektion immunisierten Tiere im allgemeinen innerhalb der ersten 2—4 Wochen ihre stärkste Entwicklung finden, wenn auch in ungleichmäßigem Grade, und in den folgenden 2—3 Monaten wieder abnehmen. Nur ausnahmsweise wurde noch nach 2 Monaten eine gesteigerte Virulizidie des Serums gefunden.

Dieser Ablauf der spezifischen Serumveränderung gelangt in besonders deutlicher Weise zum Ausdruck bei den Tieren, die gleichzeitig in Haut und Kornea geimpft worden waren (No. 5, 6, 15). Schon 14 Tage nach der Impfung besaß das Serum die Fähigkeit, bis zur Verdünnung 1:100 und selbst 1:200 das Virus vollkommen oder nahezu vollkommen abzutöten. Wir lassen es dahingestellt, ob diese sehr beträchtliche Virulizidie ausschließlich auf Rechnung des Serums und einen hohen Immunitätsgrad der vorbehandelten Tiere zu setzen ist oder nicht auch noch dadurch unterstützt wurde, daß die zur Prüfung verwendete Lymphe, nach Ausweis der Kontrollen, nur von mäßiger Virulenz war. Jedenfalls zeigte sich in diesen Fällen das Serum äußerst wirksam, und es ist wohl das nächstliegende, die Ursache hierfür in der vorausgegangenen kombinierten Infektion — Hautreaktion und beiderseitige Keratitis — zu erblicken. Trotzdem gingen die virus-tötenden Eigenschaften dem Serum allmählich wieder verloren, so daß das Serum nach 10 bzw. 12 und 13 Wochen nur noch schwach wirkte.

Wir behalten uns vor, auf diese Verhältnisse später noch einmal zurückzukommen.

Das Ergebnis der in Tabelle VIII niedergelegten Versuche läßt sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Nach kutaner Impfung erscheinen im Blute der Tiere in der Regel virulizide Stoffe.

2) Diese Stoffe sind 2—4 Wochen nach der Impfung mehr oder minder deutlich vorhanden. Sie können nach ca. 3 Monaten fast ganz verschwunden sein, aber unter Umständen auch noch nach 5 und 6 Monaten nachgewiesen werden.

3) Durch kombinierte kutane und korneale Infektion scheint eine verstärkte Virulizidie des Serums erreicht werden zu können. Die Wirksamkeit des Serums nur 1mal kutan infizierter Tiere ist gewöhnlich schwächer.

2. Ist die Korneainfektion mit spezifischer Serumveränderung verbunden?

Da die Korneainfektion auch eine allgemeine Immunität hervorrufen kann, wie wir schon im vorigen Abschnitt festgestellt haben, so müßte man von vornherein annehmen, daß hierbei virulizide Stoffe gebildet werden, da ja wohl als Uebermittler der Immunität das Blutserum anzusprechen wäre. Allerdings läßt sich schon ohne weiteres vermuten, daß diese Serumveränderung nur sehr geringfügig sein wird, denn die Immunität, die man gegenüber der Kutanimpfung von der Kornea aus zu erzielen vermag, pflegt ja schwach zu sein.

Jedoch kommt dieser Theorie noch keine weitere Bedeutung zu, solange man ihr nicht experimentell nachgegangen ist. v. Prowazek (10) war bisher wohl der einzige, welcher sich mit dieser Frage beschäftigt hat. Seiner Angabe nach inaktiviert das Serum der korneal geimpften Kaninchen die Lymphe überhaupt nicht.

Bei meinen eigenen Versuchen habe ich eine Anzahl von Kaninchen in die Kornea geimpft, fast ausnahmslos beiderseits, und nach Ablauf der spezifischen Keratitis das Serum der Tiere in der gewöhnlichen Weise auf virulizide Antikörper geprüft. Die Prüfung erfolgte meist 3—4 Wochen nach der Augenimpfung, vereinzelt auch früher oder später. Zum Teil wurden die Tiere wiederholt geimpft, wobei die zweite Korneaimpfung stets reaktionslos verlief, also die Immunität der Kornea anzeigte. Die Impfungen wurden sowohl mit stark verdünnter Lymphe (1:100), als auch mit unverdünnter Lymphe ausgeführt. Hinsichtlich der Technik des viruliziden Versuchs sei hervorgehoben, daß bei diesen Experimenten vielfach eine Kontrolle mit normalem Serum vorgenommen wurde, um die möglicherweise nachweisbaren schwachen Serumwirkungen sicher als spezifische erkennen zu können.

Tabelle
Prüfung auf virulizide Stoffe

Prot.-No.	Gewicht	Vorbehandlung und ihr Ergebnis	Intervall zwischen der Impfung und Prüfung
56	1920	Impfung mit $\frac{1}{100}$ Lymphphe beiderseits; starke Keratitis	42 Tage
139	2130	dgl.	27 „
140	1840	dgl.	27 „
4	1195	8. VII. Impfung d. r. Kornea mit $\frac{1}{100}$ Lymphphe; starke Keratitis	148 „
		6. XII. Impfung d. r. Kornea mit $\frac{1}{1}$ Lymphphe; keine Reaktion	14 „
12	1415	15. X. Impfung mit $\frac{1}{100}$ Lymphphe beiderseits; starke Keratitis.	48 Tage nach d. 2. Impfung
		7. I. Impfung mit $\frac{1}{1}$ Lymphphe; keine Reaktion	
130	2055	Impfung beider Augen mit $\frac{1}{100}$ Lymphphe; beiderseits mäßig starke Keratitis. Nach 43 Tagen 2. Impfung mit $\frac{1}{1}$ Lymphphe; beiderseits keine Reaktion	22 Tage nach d. 2. Impfung
131	1810	dgl.	dgl.
136	2635	Impfung beider Augen mit $\frac{1}{1}$ Lymphphe; beiderseits starke Keratitis	28 Tage
137	2420	dgl.	28 „
138	2915	dgl.	28 „

Die Ergebnisse, die an 10 Kaninchen gewonnen wurden, finden sich in Tabelle IX zusammengestellt. Es geht daraus hervor, daß das Serum der korneal infizierten

IX.

nach der Korneaimpfung.

Virulizider Versuch				Virulizide Kraft des Serums	
Serum + Lymphe	Ergebnis an der Hornhaut	Kontrolle			
0,2 ccm $\frac{1}{1}$	0,2 ccm $\frac{1}{50}$ dgl.	—	++ (NaCl-Lösung)	stark	
$\frac{1}{50}$	"	—			
$\frac{1}{100}$	"	—			
$\frac{1}{1}$	"	+	+++ (Normal-Serum)	gering	
$\frac{1}{1}$	"	++	+++ (Normal-Serum)	kaum vorhanden	
$\frac{1}{1}$	"	++	++++ (NaCl-Lösung)	kaum angedeutet	
$\frac{1}{10}$	"	+++			
$\frac{1}{50}$	"	++++			
$\frac{1}{1}$	"	+	++++ (NaCl-Lösung)	dgl.	
$\frac{1}{10}$	"	+++			
$\frac{1}{50}$	"	+++			
$\frac{1}{20}$	"	+++	++++	nicht sicher nach- gewiesen	
$\frac{1}{100}$	"	+++	(NaCl-Lösung)		
$\frac{1}{1}$	"	+	++++	ganz gering	
$\frac{1}{10}$	"	++++	(Normal-Serum)		
$\frac{1}{20}$	"	+++			
$\frac{1}{1}$	"	+	++++	dgl.	
$\frac{1}{10}$	"	+++	(Normal-Serum)		
$\frac{1}{20}$	"	+++			
Serum des Tieres vor der Impfung	$\frac{1}{1}$	+++	+++ (NaCl-Lösung)	Vor der Impfung kein Unterschied gegen- über NaCl-Lösung ; 4 Wochen nach der Korneaimpfung deut- lich erkennbar, aber schwach	
	$\frac{1}{10}$	+++			
	$\frac{1}{20}$	+++			
	$\frac{1}{50}$	+++			
	$\frac{1}{1}$	—	+++		
$\frac{1}{20}$	"	++	(Normal-Serum)		
Serum des Tieres vor der Impfung	$\frac{1}{1}$	+++	+++ (NaCl-Lösung)	dgl.	
	$\frac{1}{10}$	+++			
	$\frac{1}{20}$	+++			
	$\frac{1}{50}$	+++			
	$\frac{1}{1}$	+	+++ (Normal-Serum)		
$\frac{1}{20}$	"	++			
Serum des Tieres vor der Impfung	$\frac{1}{1}$	+++	+++ (NaCl-Lösung)	dgl.	
	$\frac{1}{10}$	+++			
	$\frac{1}{20}$	+++			
	$\frac{1}{50}$	+++			
	$\frac{1}{1}$	—	+++ (Normal-Serum)		
	$\frac{1}{20}$	++			

Tiere im allgemeinen schwache, oft gerade nur angedeutete virulizide Eigenschaften besitzt.

Von 3 Tieren, die einmal beiderseits mit $\frac{1}{100}$ Lymphgeimpft worden waren und mit starker Keratitis reagiert hatten, lieferte nur eines ein hochwirksames Serum; noch in der Verdünnung 1:100 tötete dieses Serum das Virus vollkommen ab (No. 56). Dabei ist jedoch zu bemerken, daß es sich offenbar um eine nicht allzu virulente Lymphgeimpfung handelte, denn auch das Kontrolltier bekam nur eine mäßige Keratitis. Die beiden anderen Kaninchen (No. 139 und 140) zeigten demgegenüber eine äußerst geringe Virulenz des Serums, indem selbst das unverdünnte Serum nicht mehr als eine Abschwächung, die in dem einen Fall sogar zweifelhafter Natur war, hervorzurufen vermochte.

Ganz ähnlich sind die Ergebnisse bei einigen anderen Tieren, denen wir durch wiederholte Impfung eine verstärkte Korneaimmunität und damit vielleicht auch eine stärkere allgemeine Immunität zu verleihen suchten, in der Erwartung, daß sich unter diesen Bedingungen eine Vermehrung der virulenzhaften Stoffe des Serums erreichen ließe. Das ist aber nicht der Fall gewesen (vgl. No. 4, 12, 130, 131). Nur das konzentrierte Serum der revakzinierten Tiere, 14 bzw. 22 und 48 Tage nach der 2. Impfung gewonnen, übte eine abschwächende Wirkung auf das Virus aus, wogegen Verdünnungen von 1:10 bzw. 1:20 ohne erkennbaren Einfluß auf die Virulenz der Lymphgeimpfung waren. Die Wiederimpfung war bei den Tieren nach $1\frac{1}{2}$, 3 und 5 Monaten vorgenommen worden, und zwar mit unverdünnter Lymphgeimpfung, und hatte an der Kornea keinerlei Reaktion bewirkt. Auch erwies sich, wie in einem Fall (No. 4) besonders festgestellt wurde, schon zur Zeit der kornealen Wiederimpfung und völligen kornealen Immunität das Serum des Tieres als so gut wie antikörperfrei. Die Blutprobe war hier 2 Tage vor der 2. Impfung entnommen worden. Die Beweiskraft dieser Beobachtung dürfte durch den Umstand, daß das Tier nur einseitig geimpft worden war, kaum beeinträchtigt werden. Vor allem aber möchte ich in diesem Zusammenhang und im Hinblick auf die später zu besprechenden Versuche mit kutaner Revakzination die Tatsache nochmals unterstreichen, daß die reaktionslos verlaufende Wiederimpfung der Kornea anscheinend keine vermehrte Antikörperbildung im Blute zur Folge hatte.

Die übrigen Tiere (No. 136, 137, 138) waren von vornherein mit unverdünnter Lymphe beiderseits geimpft worden und hatten mit starker Keratitis reagiert. Ihr Serum äußerte nach 28 Tagen deutliche, wenn auch nicht allzu starke virulizide Kraft. In unverdünntem Zustande vermochte es das Virus vollkommen oder nahezu vollkommen abzutöten, in der Verdünnung 1:20 rief es nur noch eine unbedeutende Abschwächung des Virus hervor.

Wir können somit das Resultat dieser Versuchreihe dahin zusammenfassen:

- 1) Die Korneaimpfung bei Kaninchen läßt in dem Blutserum der Tiere virulizide Stoffe auftreten.
- 2) Die spezifische virustötende Kraft des Serums ist aber im allgemeinen nur schwach und bisweilen selbst in Verdünnungen von 1:10 kaum noch nachweisbar.
- 3) Auch bei Verimpfung unverdünnter virulenter Lymphe auf die Kornea halten sich die nachweisbaren spezifischen Blutveränderungen innerhalb enger Grenzen.
- 4) Die korneale Revakzination, mit reaktionslosem Verlauf, ruft keine nachweisbare Vermehrung der viruliziden Antikörper im Blutserum hervor.

3. Wird die Serumveränderung durch wiederholte kutane Impfung gesteigert? Ist hierzu Reaktion erforderlich oder nicht?

Früher glaubte man, daß bei Pocken die Immunisierung des Gesamtorganismus nur von der Haut aus durch Pustelbildung zustande kommen könne. Versuche einer Immunisierung auf anderem Wege als durch Hautimpfung wurden im Laufe der Zeit viel ausgeführt. Den Weg der subkutanen Injektion schlugen Senfft (61), Zagari (42) und Paul (62) ein, aber mit negativem Resultate. Dagegen gelang es Fröhlich (63), Chauveau (64), Warlomont (65), Béclère, Chambon und Ménard (39), Tedeschi (43), Kälber und Pferde durch subkutane Injektion zu immunisieren. Dieses positive Resultat wurde 1906 von Kraus und Volk (8) bei Affen, später auch von v. Prowazek (10) und Casagrandi (16) bestätigt. Unsere eigenen Beobachtungen. über die an

35*

früherer Stelle berichtet worden ist, sprechen in gleichem Sinne.

Nach den Versuchen von Nobl (51) und Knöpfelmacher (52) erwies sich auch bei Menschen diese Tatsache als gültig. Immerhin spielen bei der subkutanen Injektion lokale Vorgänge mit, weil die an der Injektionsstelle sich bildenden Infiltrate einigermaßen zu den Hautpusteln in Parallele gesetzt werden können.

Hingegen ließen sich solche lokale Veränderungen ganz vermeiden, indem man zur intravenösen Methode überging. Chauveau hat zuerst beim Pferd festgestellt, Straus, Chambon und Ménard (38) haben beim Rind nachgewiesen, daß nach intravenöser Injektion von Vakzinelymphe Immunität erreicht werden kann. In neuerer Zeit ist namentlich durch Gins diese Tatsache auch für das Kaninchen bestätigt worden. 1901 studierten Calmette und Guérin (53) die Frage bei Kaninchen und fanden, daß keine spontanen Pusteln entstanden, daß auch der biologische Nachweis des Kontagiums in den inneren Organen 24 Stunden nach der Injektion niemals gelang und daß die Tiere sich dennoch am 5. Tage als völlig immun erwiesen. Sie konstatierten ferner, daß die intravenös geimpften Kaninchen auf die (sterile) Skarifikation der Haut innerhalb 24 Stunden nach der Impfung mit Pusteleruption reagierten, während später ausgeführte Hautritzungen reaktionslos blieben. An der Hand dieser Experimente haben sie also festgestellt, daß das Vakzinevirus nach intravenöser Injektion im Organismus spätestens nach 24 Stunden zugrunde geht (vgl. hierzu auch die Versuche von Gins und Weber [73]).

Diese Feststellung gab zu dem Versuche Anlaß, mit abgetötetem Virus Immunität hervorzurufen. Zwar nahm Janson (33) schon früher derartige Experimente vor, aber ohne Erfolg. 1907 gelang es Kraus und Volk (9), sowie v. Prowazek (10), mit abgetötetem Virus Affen auf subkutanem Wege zu immunisieren. Süpfle (4) konnte bei Kaninchen den gleichen Erfolg erzielen und hielt diese Tatsache vom theoretischen Standpunkt aus für sehr interessant, weil das schon lange herrschende bakteriologische Gesetz damit auch beim Pockenerreger Geltung gewonnen habe.

In diesem Zusammenhang sei endlich noch auf die Beobachtung von Kraus und Volk (8) hingewiesen, die fanden, daß bei kutaner Infektion eines Affen Immunität eintritt, auch wenn die Pustelbildung durch vorzeitige Exzision der geimpften Stelle unmöglich gemacht wird.

Wenn man alle diese Ergebnisse berücksichtigt, so geht, trotz mancher Widersprüche im einzelnen, daraus jedenfalls das eine hervor, daß sich die allgemeine Immunität (Hautimmunität) auch dann entwickeln kann, wenn die erste Einverleibung des Virus nicht zu einer sichtbaren Lokalreaktion geführt hat. Insbesondere ist Pusteleruption an der Haut nicht unerläßliche Vorbedingung für das Eintreten der Hautimmunität, wenngleich sich durch kutane Infektion unzweifelhaft die Immunisierung des Organismus am sichersten und leichtesten bewirken läßt. Die mit starker Vermehrung des Virus einhergehende spezifische Hautreaktion setzt die günstigsten Bedingungen. Auf subkutanem oder intravenösem Wege läßt sich Ähnliches eben nur bei Verwendung relativ großer Virusmengen erreichen.

Bleibt bei einem normalen Individuum, also bei erstmaliger Impfung, im Anschluß an die kutane Infektion jede Reaktion aus, so kommt es, wie wir wissen, auch nicht zur Immunität. Das kann sich ereignen, wenn die Lymphe zu wenig virulent war oder das Virus aus sonst irgendeinem Grunde nicht haftete. Anders aber liegen die Dinge, wenn der immunisierte Organismus sich gegenüber einer erneuten kutanen Infektion mit virulentem Impfstoff als refraktär erweist. Hier handelt es sich um eine spezifische Abwehrreaktion, und man könnte sich sehr wohl vorstellen, daß unter diesen Bedingungen, trotz des Ausbleibens äußerlich erkennbarer Hautveränderungen, eine Steigerung der Immunität eintritt. Die Frage ist auch in praktischer Hinsicht von großer Bedeutung. Sie läuft darauf hinaus, ob Menschen, die der Revakzination unterworfen werden und die Impfung ohne Pustelbildung überstehen, nun eine weitere Steigerung ihrer an sich schon hohen Immunität erfahren oder nicht. Verschiedene Autoren (v. Pirquet, Paul, Gins u. a.) haben hierzu neuerdings Stellung genommen und die Frage verneint. Sie erblicken in dem Ausbleiben der Hautreaktion nur ein

Tabelle X. Wirkung der reaktionslosen kutanen Wiederimpfung auf die Virulizidie des Blutes.

Prot.-No.	Hautimpfung		Datum	Virulizider Versuch				Bemerkung
	Datum	Reaktion		Immunserum	+ Vakzine	Ergebnis an der Hornhaut	Kontrolle	
1 1385	9. VII. 1)	Pustelcrupt +++	13. X.	0,2 ccm $\frac{1}{1}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$	0,2 ccm $\frac{1}{50}$ dgl.	— +++ +++	++ ++ ++	1. Hautimpfung mit st. Reakt. Nach 3 Monaten virulizide Kraft äußerst schwach.
	14. X. 2)	negativ (Kontr. +++)	28. X.	$\frac{1}{1}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$	" " "	— — —	++ ++ ++	2. Hautimpfung ohne Re- aktion. Virulizide Kraft des Serums stark gesteigert.
	29. XI.			$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$ $\frac{1}{100}$	" " "	— — —	++ ++ ++	
2 1995	9. VII. 1)	+++	15. X.	$\frac{1}{1}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$	" " "	— +++ +++	++ ++ ++	1. Hautimpfung mit st. Reakt. Nach 3 Monaten ist die virulizide Kraft sehr schwach.
	16. X. 2)	— (Kontr. +++)	30. X.	$\frac{1}{1}$ $\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$	" " "	— — —	++ ++ ++	2. Hautimpfung verlief ohne Reaktion. Danach auffallende Steigerung der viruliziden Kraft bemerkbar.
	22. XII.			$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$	" " "	— — —	++ ++ ++	
5 1267	30. X. 1)	+++	13. XI.	$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{50}$ $\frac{1}{100}$	" " "	— — —	++ ++ ++	1. Hautimpfung zeigt starke Reaktion. Dadurch bekommt das Serum starke virulizide Kraft.
	9. I.			$\frac{1}{200}$ $\frac{1}{400}$ $\frac{1}{1000}$	" " "	+++ +++ +++	++ ++ ++	Nach 2 Monaten hat sich die virulizide Kraft abgeschwächt.
	23. I. 2)	— (Kontr. +++)	6. II.	$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{200}$	" " "	+++ +++ +++	++ ++ ++	2. Hautimpfung ist reaktions- los. Trotzdem ist die virulizide Kraft wieder stärker geworden.
	24. III.			$\frac{1}{200}$ $\frac{1}{1000}$ $\frac{1}{2000}$	" " "	— — —	++ ++ ++	
	23. X.			$\frac{1}{20}$ $\frac{1}{100}$	" "	— ++	++ ++	Erst nach 9 Monaten konnte man die Abschwächung der viru- liziden Kraft nachweisen.

1. XI.	22. XI.	0,2 ccm $\frac{1}{20}$	0,2 ccm $\frac{1}{50}$	Bei der 3. Hautimpfung ist die Reaktion auch negativ. Die virulizide Kraft hat sich jedoch wieder erhöht.
15 2286	30. X.	1)	1)	1. Hautimpfung ist mit starker Reaktion angegangen. Die virulizide Kraft ist nach 2 Wochen schon sehr stark.
				Nach $2\frac{1}{2}$ Monaten wird sie schwächer.
4. II.	23. II.	2)	2)	2. Hautimpfung mit negativer Reaktion. Auffallender Einfluß auf die virulizide Kraft.
8. VII.	27. V.	3)	3)	Nach $3\frac{1}{2}$ Monaten ist die virulizide Kraft wieder schwach.
71 2565	25. III.	1)	1)	3. Hautimpfung nicht angegangen. Dadurch aber starke Erhöhung der viruliziden Kraft.
				1. Hautimpfung mit Pusteleruption.
1. XI.	7. IX.	2)	2)	Nach 5 Monaten erweist sich die virulizide Kraft als schwach.
	22. XI.			2. Hautimpfung ohne Reaktion, aber mit Erhöhung der viruliziden Kraft.
	17. I.			Nach $2\frac{1}{4}$ Monaten hat das Serum noch starke virulizide Kraft.
72 2560	25. III.	1)	1)	1. Hautimpfung mit stark positiven Hauterscheinungen.
	7. IX.			Nach 5 Monaten ziemlich schwache virulizide Kraft.
30. X.	22. XI.	2)	2)	2. Hautimpfung völlig reaktionslos. Die Serumveränderung aber deutlich.
	17. I.			Nach $2\frac{1}{2}$ Monaten ist die virulizide Kraft noch stark.

diagnostisch verwertbares Symptom, das uns über den Immunitätszustand des betreffenden Individuums Auskunft gibt, und sind der Ansicht, daß eine Steigerung der Immunität, eben wegen der fehlenden Reaktion, damit nicht verbunden sei. So würde also der Wert der Revakzination für die betreffenden Personen ein illusorischer sein.

Mit Hilfe der spezifischen Serumreaktion müßte sich ein Einblick in die biologischen Vorgänge der in Rede stehenden Art gewinnen lassen. Ich habe es versucht, im Tierexperiment Klarheit zu erlangen. Damit komme ich noch einmal auf die früheren Versuche zurück.

Wenn man Kaninchen kutan mit Vakzine impft, so wird, wie wir sahen, nach ca. einer Woche die Haut gegen die Wiederimpfung immun und nach etwa zwei Wochen erwirbt das Blutserum virulizide Kraft. Es kommt dann ein Zeitpunkt, wo diese die virulizide Kraft abnimmt oder ganz verschwindet, während Hautimmunität in unverminderter Stärke erhalten bleibt. Die Dauer der Immunität ist offenbar eine recht lange. Nach Gins (1) beobachtet man selten vor Ablauf von 5 Monaten eine Abnahme der Immunität, und nach meinen eigenen Untersuchungen erweisen sich die vakzinierten Tiere noch nach 7 Monaten selbst gegenüber einem starken Virus als immun (vgl. Tabelle I und X). Demgegenüber ist die Zeit, während der sich Schutzstoffe im Blutserum nachweisen lassen, viel enger begrenzt. Etwa 2—3 Monate nach der Impfung war in einigen meiner Versuche das Serum der Tiere wieder ohne nennenswerten Gehalt an viruliziden Stoffen. Auch Martius (49) fand beim Kalb, daß das virulizide Vermögen nach 3 Monaten stark abnimmt. Jedenfalls kann als feststehend gelten, daß die virulizide Kraft des Serums schneller als die Immunität verschwindet, und wenn wir gerade in einer solchen Periode das Kaninchen nachimpfen, so bleibt dabei, trotz Fehlens virustötender Antikörper, die vakzinale Reaktion aus. Es entsteht nun die Frage, ob durch eine solche Nachimpfung die Antikörperproduktion erneut angeregt wird oder nicht.

Die Wirkung der reaktionslos verlaufenen Wiederimpfung auf das Blutserum wurde bisher nicht speziell geprüft. Unser Untersuchungsplan war der folgende: Das Kaninchen wird

auf breiter Hautfläche mit Vakzine geimpft und nach Ablauf der Reaktion weiterhin so lange unbehandelt gelassen, bis man, nach einigen Monaten, die Abschwächung oder das Verschwinden der viruliziden Kraft des Serums konstatieren kann. Dann wird die Wiederimpfung vorgenommen. Fällt sie, wie anzunehmen, negativ aus, so ist durch eine erneute Untersuchung festzustellen, ob diese reaktionslose Wiederimpfung eine Serumveränderung im Sinne gesteigerter virulizider Wirkung bedingt hat.

Die Tabelle X umfaßt die Resultate bei 6 Tieren. Ich hatte, dem Zweck entsprechend, noch eine größere Anzahl vorbereitet, alle anderen aber gingen leider an interkurrenten Erkrankungen ein. Dennoch ist das Ergebnis so eindeutig, daß es wohl zu allgemeinen Schlußfolgerungen berechtigt.

Hier sei, besserer Orientierung halber, an einem Beispiel das vollständige Uebersichtsprotokoll eines Versuches beigelegt.

Protokoll von Kaninchen No. 5. Körpergewicht 1267 g.

- 8. VII. 1. Augenimpfung beim viruliziden Versuch. Resultat: r. —, l. ++.
- 30. X. 1. kutane Impfung mit unverdünnter Glycerinlymphe (Impf-
fläche 49 qcm). Resultat: +++ (reichliche Pusteleruption).
- 2. Augenimpfung: Resultat: r. +++ , l. +.
- 13. XI. Untersuchung auf virulizide Kraft des Serums (2 Wochen nach
der letzten Impfung). Resultat: starke virulizide Kraft (wirksame
Serumverdünnung bis 1:200).
- 9. I. Untersuchung auf virulizide Kraft des Serums (ca. 2 Monate
nach der Impfung). Resultat: deutliche, starke Abschwächung.
Serum 1:20 hebt Wirkung des Virus nicht auf.
- 23. I. 2. kutane Impfung mit unverdünnter Glycerinlymphe (Impf-
fläche 25 qcm). Resultat: —. (Die Impfung verlief nur mit
leichter Rötung.) (Kontrollimpfung +++)
- 6. II. Untersuchung auf virulizide Kraft des Serums (2 Wochen nach
der Wiederimpfung). Resultat: deutliche Verstärkung trotz des
negativen Impferfolges. Serum 1:200 ist noch wirksam.
- 24. II. Virulizide Kraft des Serums noch stark, etwa wie am 6. II.
- 27. V. Dgl.
- 14. VII. Dgl.
- 7. IX. Dgl. (7½ Monate nach der Wiederimpfung.)
- 18. X. Deutliche Abschwächung der Serumwirkung wird konstatiert
(9 Monate nach der Wiederimpfung).
- 23. X. Das Resultat ist gleich dem vorigen. Serum 1:20 tötet Virus
ab, 1:100 völlig unwirksam.
- 1. XI. 3. kutane Impfung mit unverdünnter Lympe. Resultat: —.
(Kontrollimpfung +++)
- 22. XI. Untersuchung auf virulizide Kraft des Serums ergibt eine deut-
liche Verstärkung derselben trotz der negativen Impfreaktion.
Serum wirkt 1:100 vollkommen virulizid.

Der Verlauf des Versuches bei diesem Tier ist ganz typisch und sei daher kurz besprochen. Im Anschluß an Kutan- und Korneaimpfung erwirbt das Serum stark virulizide Fähigkeiten, wie durch eine 14 Tage später vorgenommene Prüfung festgestellt wurde. Dann sinkt die Abtötungskraft des Serums in den folgenden 2 Monaten ab und äußert sich nur noch ganz schwach. Im Anschluß an eine nunmehr wiederholte Kutanimpfung, die reaktionslos verläuft, aber bei einem Kontrolltier starke Pusteleruption hervorruft, treten von neuem virulizide Stoffe in erheblicher Menge auf, indem das Serum noch in 200-facher Verdünnung virulente Lymphe nahezu unwirksam macht. Erst nach 9 Monaten macht sich abermals eine deutliche Abschwächung der Virulizidie des Serums bemerkbar. Auf eine 3. Kutanimpfung geht, wie die nach 21 Tagen ausgeführte Prüfung erweist, die Serumwirkung alsbald wieder in die Höhe.

Schon hiernach ist es klar, daß bei einem immunisierten Tier auch durch die reaktionslos verlaufende Nachimpfung die verloren gegangenen oder stark abgeschwächten viruliziden Kräfte des Serums neu geweckt werden können. Ja, es scheint fast, wenn man das Verhalten des Serums nach der 2. Impfung bei diesem Tiere berücksichtigt, als werde durch die Nachimpfung zugleich auch die Persistenz der viruliziden Fähigkeiten verlängert.

Ganz gleichartig sind aber auch die bei den übrigen Tieren erhobenen Befunde. Sie zeigen übereinstimmend, daß die Wiederimpfung, wenn sie auch ohne Reaktion verlaufen ist, wie es immer der Fall war, doch eine Serumveränderung im Sinne einer Verstärkung der viruliziden Kraft hervorruft. Diese Verstärkung erfolgt in solchem Grade, daß die Serumwirkung sich zum mindesten nicht als schwächer erweist, als nach der 1. Impfung. Ein Vergleich zwischen Tabelle X und Tabelle VIII läßt dies ohne weiteres erkennen. Und daß die Serumveränderung auch nicht flüchtiger Natur, sondern ebenso lange oder vielleicht noch länger haltbar ist, wie die nach Impfung mit Pusteleruption, dürfte sich aus den Versuchen No. 5, No. 71 und No. 72 ergeben.

Meine Resultate weichen etwas von den Beobachtungen

von Béclère, Chambon und Ménard (40) ab, welche beschrieben, daß das Blutserum mancher revakzinierter Menschen nur wochen- oder höchstens monatelang, bei einzelnen Individuen sogar nur tagelang oder auch gar nicht sich antivirulent zeigte. Diese Differenzen könnten jedoch, meiner Meinung nach, von der Verschiedenheit in der Ausführung des viruliziden Versuches herrühren.

Man wird jedenfalls nach dem Ausfall meiner Versuche zu dem Schlusse berechtigt sein, daß die Nachimpfung immunisierter Individuen doch eine tiefergreifende Wirkung äußert, als aus dem reaktionslosen Verlauf und dem völlig refraktären Verhalten der Haut zunächst hervorzugehen scheint. Bezüglich der nicht unwichtigen Beziehung dieses Ergebnisses zu der Frage der Revakzination verweise ich auf das letzte Kapitel, wo eine eingehende Besprechung darüber stattfinden soll.

Die Ergebnisse dieses Abschnittes lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1) Werden Tiere, die durch eine erste (kutane) Impfung immunisiert worden sind, aber ihre viruliziden Serumstoffe wieder ganz oder größtenteils verloren haben, einer Nachimpfung unterworfen, so wird durch diese Wiederimpfung die virulizide Kraft des Serums von neuem verstärkt, obwohl die Impfung reaktionslos verläuft.

2) Diese wieder gesteigerte Abtötungskraft des Serums ist ebenso wirksam gegen das Vakzinevirus und auch mindestens ebenso dauerhaft wie die durch die erste Impfung erzeugte.

VI. Zur Vererbung der Vakzineimmunität.

Während der vorliegenden Untersuchungen gebar ein immunisiertes Weibchen 2 Junge und verschaffte mir die Gelegenheit, auch die Frage der Vererbung der Vakzineimmunität näher zu prüfen.

Nach den langjährigen Erfahrungen der Vakzination kommt die Vererbung dieser Immunität sehr selten vor; nur 0,08 Proz. der Erstimpflinge verhalten sich gegen die Impfung völlig refraktär (Pfeiffer, 74). Da das Vakzinevirus gewöhnlich

nicht in den allgemeinen Kreislauf übergeht, die Impfung der Mütter überdies ja auch nicht während der Gravidität vorgenommen zu werden pflegt, könnte es sich in diesen höchst seltenen Ausnahmefällen wohl nur um die Vererbung einer passiven Immunität handeln. Es wäre dann aber weiterhin mit der Möglichkeit zu rechnen, daß sich die Vererbung einer solchen Immunität häufiger nachweisen ließe, wenn man die Kinder schon bald nach der Geburt impfte, ehe die spezifischen Antikörper wieder ausgeschieden sind, bzw. im frühen Säuglingsalter, und wenn die Mütter gerade während der Gravidität der Vakzination unterworfen würden. Die bisherigen Experimente in dieser Richtung verliefen allerdings ungleich. So z. B. fiel die Impfung der Neugeborenen bei Wolff (75) stets positiv aus, obgleich die Schwangeren meistens mit vollkommenem Erfolge geimpft worden waren, oder es schlug die Erstimpfung nach Behm (76), Palm (77) etc. nur in einem geringen Prozentsatz fehl. Kirstein (84) fand neuerdings gleichfalls die neugeborenen Kinder frisch a. p. revakzinierter Mütter für die Impfung empfänglich. Andererseits konnte z. B. Mensching (85) feststellen, daß Neugeborene in einem hohen Prozentsatz gegen die Wirkung der Vakzine unempfindlich sein können, wenn die Mütter während der drei letzten Monate ihrer Schwangerschaft geimpft wurden. Die Versuche von Süpfle (78) bei Kaninchen führten zu dem Ergebnis, daß die Vererbung der Vakzineimmunität höchstens ausnahmsweise vorkommt und fast stets nur einen partiellen und vorübergehenden Schutz bedingt.

Was nun meinen Fall anbetrifft, so zeigt er gewisse Besonderheiten, die ihn eines näheren Berichtes wert erscheinen lassen (vgl. Tabelle XI).

Tabelle XI.
Vererbung der Vakzineimmunität.
Protokollauszug.

1) **Kaninchen No. 15**, Körpergewicht 2286 g.

- | | |
|---------|--|
| 30. X. | 1. kutane Impfung mit unverdünnter Lymphe (Impffläche 60 qcm).
Resultat: + + +. |
| | 1. Korneaimpfung am rechten Auge mit $\frac{1}{10}$ Lymphe. Resultat:
+ + +. |
| 13. XI. | Untersuchung auf die virulizide Kraft des Serums (2 Wochen nach der kutanen Impfung). Resultat: starke virulizide Wirkung (1:100). |

29. I. Virulizide Wirkung des Serums schwächer (1:20) (3 Monate nach der Hautimpfung).
 4. II. 2. kutane Impfung mit unverdünnter Glyzerinlymphe. Resultat: — (Kontrollimpfung: +++).
 9. II. 2 Junge geboren.
 23. II. Virulizide Kraft des Serums wieder sehr stark, mindestens 1:200 (ca. 3 Wochen nach der 2. kutanen Impfung).
 15. IV. Untersuchung auf die virulizide Wirkung der Milch. Resultat: unverdünnte Milch ein wenig wirksam, dagegen 1:10 verdünnt keine Wirkung mehr.
 27. V. Virulizide Kraft des Serums stark abgenommen; 1:20 ganz unwirksam.
 8. VII. 3. kutane Impfung mit unverdünnter Lymph. Resultat: — (Kontrollimpfung: +++).
 21. VII. Virulizide Kraft des Serums auffallend stärker geworden, 1:100 bis 1:200.

2) Junges No. 1.

5. III. 1. kutane Impfung mit unverdünnter Glyzerinlymphe (1 Monat nach der Geburt). Resultat: — (Kontrollimpfung¹⁾: +++).
 1. Korneaimpfung am rechten Auge mit $\frac{1}{50}$ Lymph. Resultat: — (Kontrollimpfung: +++).
 Virulizide Kraft des Serums (vor der Impfung gewonnen) schwach. Verdünnungen 1:20 und 1:100 bewirken nur Abschwächung, keine Abtötung des Virus.
 6. IV. Starb an Pneumonie.

3) Junges No. 2.

5. III. 1. kutane Impfung mit unverdünnter Glyzerinlymphe. Resultat: —.
 1. Korneaimpfung des rechten Auges mit $\frac{1}{50}$ Lymph. Resultat: —.
 Virulizides Vermögen des Serums schwach, Verdünnung 1:20 bewirkt Abschwächung des Virus.
 19. V. 2. Korneaimpfung am rechten Auge mit $\frac{1}{50}$ Lymph. Resultat: +++ (Kontrollimpfung: +++).
 25. V. 2. kutane Impfung mit unverdünnter Lymph. Resultat: — (Kontrollimpfung: +++).
 30. VII. 3. kutane Impfung mit unverdünnter Lymph. Resultat: — (Kontrollimpfung: +++).
 3. Korneaimpfung an beiden Augen mit $\frac{1}{50}$ Lymph. Resultat: rechts: —, links: +++ (Kontrollimpfung: +++).
 17. VIII. Starb an Pneumonie.

Das Muttertier wurde am 30. Okt. 1919 zum ersten Male an beiden Flanken breit geimpft und bekam nach 3 Tagen eine reichliche Pusteleruption. Gleichzeitig erfolgte Korneaimpfung, die mit sehr starker keratitischer Reaktion verlief. Nach 2 Wochen konstatierte ich eine erhebliche virulizide Kraft des Serums, welche sich aber nach 3 Monaten wieder

1) Als Kontrolltier haben wir ein nur wenig älteres Kaninchenjunges gebraucht.

als abgeschwächt erwies. Am 4. Febr. 1920 (also 3 Monate nach der 1. Impfung) wurde das Tier zum zweiten Male, mit negativem Erfolge, kutan geimpft. 5 Tage nachher (9. Febr.) gebar es 2 Junge. 1 Monat nach der Geburt stellte ich durch die kutane Impfung mit der unverdünnten Glyzerinlymphe fest, daß die beiden Jungen vollkommen immun gegen die Vakzination waren; auch die Hornhaut (rechtes Auge) verhielt sich gegen die Impfung der 1:50 verdünnten Glyzerinlymphe unempfindlich. Dabei gingen die Kontrollimpfungen an einem etwa gleich alten kleinen Kaninchen alle stark an. Am 6. April ging das Junge No. 1 ein. Die Korneaimpfung mit 1:50 verdünnter Glyzerinlymphe bei No. 2, rechts, 19. Mai, und links, 30. Juli, verlief unter dem Bilde einer starken Keratitis. Dagegen schlugen wiederholte kutane Impfungen, am 25. Mai und 30. Juli, immer fehl.

Von Interesse ist das serologische Verhalten der Jungen und des Muttertieres. Das Serum der beiden jungen Kaninchen, am Tage der 1. Impfung — aber vor der Impfung — geprüft, zeigte eine deutliche, wenn auch schwache virulizide Wirkung. In dem mütterlichen Serum wurden 19 Tage nach der 2. Impfung (14 Tage nach der Geburt der Jungen) die vorher stark zurückgegangenen viruliziden Antikörper wieder in beträchtlicher Menge nachgewiesen. Die virulizide Kraft der Milch des Muttertieres erwies sich als ganz gering und äußerte sich nur bei der unverdünnten Milch durch eine abschwächende Wirkung. Allerdings wurde diese Prüfung erst ca. 2 Monate nach dem Wurf ausgeführt.

Es muß nach dem Ausfall dieser Versuche wohl angenommen werden, daß die Vererbung der Immunität sich auf dem Wege passiver Immunisierung vollzogen hat. Natürlich ist auch daran zu denken, daß ein Uebergang des Vakzinevirus in die Blutbahn eine aktive Immunisierung der Jungen zur Folge gehabt haben könnte, und die besonderen Umstände des Falles legen eine solche Möglichkeit und Vermutung sogar nahe: Impfung des trächtigen Muttertieres wenige Tage vor der Geburt der Jungen, völlige Hautimmunität des einen Jungen (No. 2) noch nach 6 Monaten. Dennoch aber ist der Zusammenhang wohl ein anderer, wie speziell

das Verhalten der Kornea bei No. 2 zu beweisen scheint. Die erste Hornhautimpfung ist hier — wie auch bei dem bald darauf eingegangenen Jungen No. 1 — völlig reaktionslos verlaufen, wogegen spätere Impfungen (ca. $3\frac{1}{2}$ bzw. 6 Monate nach der Geburt) zu typischer starker Keratitis führten, also die Hornhaut wieder so empfänglich fanden wie die eines normalen Tieres. Diese kurze Dauer der Immunität spricht gewiß sehr zugunsten ihres passiven Charakters! Das Verhalten der Haut bei dem gleichen Tiere steht mit einer solchen Auffassung nicht in Widerspruch. Die wiederholten kutanen Impfungen sind zwar niemals angegangen, auch nicht nach 6 Monaten, doch ist hierdurch keineswegs der Beweis für die Dauerhaftigkeit der ererbten Immunität geliefert. Sie könnte nur vorgetäuscht sein, und gerade die in früheren Abschnitten mitgeteilten Beobachtungen führen zu einer anderen Deutung. Nachdem wir festgestellt haben, daß der reaktionslose Verlauf der kutanen Impfung bei einem schon immunisierten Tiere eine gesteigerte Virulenz des Blutes und damit wahrscheinlich auch eine Verstärkung der Immunität zur Folge hat, kann das Hautexperiment in dem vorliegenden Falle nicht als rein angesehen werden. Es ist sehr wohl möglich und sogar in hohem Maße wahrscheinlich, daß das Junge (No. 2) ursprünglich nur über eine Serumimmunität verfügt und daher die 1. Kutanimpfung, ca. 1 Monat nach der Geburt, nicht mit spezifischer Hautreaktion beantwortet hat, durch diese Impfung aber zugleich nun aktiv immun geworden ist. Des weiteren besteht die Möglichkeit, daß die inzwischen wieder ausgeführte und positiv ausgefallene Korneaimpfung einen Einfluß auf den Verlauf der 2., zum mindestens der 3. Kutanimpfung im Sinne aktiver Immunisierung ausgeübt hat. Auffallend ist es andererseits aber, daß die Hautimmunität, die sich bei jeder Impfung als vollkommen erwies, die Empfänglichkeit der Kornea nicht im geringsten beeinflußte.

Wenn auch zugegeben werden kann, daß der von uns angenommene Zusammenhang durch die vorliegenden Versuche nicht völlig einwandfrei bewiesen ist, so war ja ein solcher Beweis überhaupt kaum experimentell zu führen. Man könnte sich eben auch vorstellen, daß die Jungen des immunen Muttertieres ihre Immunität auf aktivem Wege intra-

uterin erworben hatten und daß diese — relativ schwache — Immunität in der Haut länger erhalten blieb als in der Kornea. Doch trägt diese Deutung, wie uns scheint, den Einzelheiten der vorliegenden Beobachtung nicht genügend Rechnung.

Aus dieser kurzen Beobachtung geht jedenfalls hervor:

1) Die Vererbung der Vakzineimmunität bei Kaninchen ist möglich.

2) Sie wurde festgestellt bei den 2 Jungen eines durch kutane und korneale Impfung immunisierten Muttertieres.

3) Die ererbte Immunität erstreckte sich auf Haut und Kornea.

4) Im Serum der immunen Jungen konnten nur schwache virulizide Kräfte nachgewiesen werden.

5) Das Serum des Muttertieres besaß stark virulizide Eigenschaften, die Milch nur geringe Wirkung.

6) Die Hornhautimmunität des jungen Kaninchens war nach $3\frac{1}{2}$ Monaten erloschen, die Hautimmunität bestand fort.

7) Die ererbte Immunität ist vermutlich eine passive Immunität.

VII. Schlußfolgerungen.

1. Ueber die Theorie der Variola-Vakzineimmunität.

Die von v. Prowazek begründete histogene Theorie der Variola-Vakzineimmunität fand am meisten Anhänger.

Den antivirulenten Substanzen im Serum wurde keine ausschlaggebende Bedeutung zugesprochen, weil die früheren Untersuchungen ergeben hatten, daß zunächst ihr Auftreten durchaus kein regelmäßiges Vorkommen darstellt, daß sie ferner im Vergleich mit der Immunität sehr rasch aus dem Blut verschwinden und daß schließlich auch die Immunität sich bereits in vollem Maße entwickeln kann, bevor die antivirulenten Substanzen im Serum nachweisbar sind. Dazu schien noch die Sonderstellung der Korneaimmunität ein unüberwindliches Hindernis für die Annahme einer Serumimmunität zu bilden.

Wie wir gesehen haben, kann nach neueren Beobachtungen das selbständige Verhalten der Kornea gegenüber der Vakzineinfektion und Vakzineimmunität nicht mehr in vollem Umfange aufrechterhalten werden, und auch für die Bedeutung der spezifisch viruliziden Antikörper des Blutserums haben sich immer mehr Anhaltspunkte gewinnen lassen. Es ist namentlich das Verdienst von Gins, diese Verhältnisse in einer Reihe gründlicher Untersuchungen näher verfolgt zu haben. Auch meine eigenen experimentellen Studien, über die in der vorliegenden Arbeit berichtet worden ist, bestätigen im wesentlichen diese Auffassung und sprechen dafür, daß zwischen Korneaimmunität und Hautimmunität doch sicher Wechselbeziehungen bestehen, die offenbar durch die viruliziden Wirkungen des Immunserums vermittelt werden¹⁾. Die Tatsache, daß wir virulizide Stoffe im Blute der kutan geimpften Kaninchen in der Regel auftreten sahen, zum Teil in beträchtlicher Menge, und daß auch bei kornealer Infektion das Blutserum einen gewissen, meist allerdings schwachen Gehalt an solchen Antikörpern aufwies, gibt der humoralen Theorie der Vakzineimmunität jedenfalls eine Stütze. Da ferner die Möglichkeit einer passiven Immunisierung nach unseren früheren Darlegungen als erwiesen gelten kann und wir selbst in einem Falle angeborener Immunität bei 2 jungen Kaninchen mit größter Wahrscheinlichkeit auf eine passive Immunisierung während des intrauterinen Lebens durch das immune Muttertier schließen durften, ist wohl an der Bedeutung der viruliziden Serumstoffe für die Vakzineimmunität kaum mehr zu zweifeln. Daher möchte ich glauben, daß man mit Gins wohl anzunehmen berechtigt ist, „daß die antivirulenten Substanzen bei Vakzine und Variola dieselbe Bedeutung für das Vorhandensein der Immunität haben, wie die bei anderen Infektionskrankheiten bekannten Antikörper auch“.

1) Auch für das Virus des Herpes febrilis ist durch Doerr und Vöchting (86) gezeigt worden, daß die vermeintliche Sonderstellung der Kornea in Wahrheit nicht vorhanden ist. Die Wechselbeziehungen zwischen Allgemeininfektion und Korneainfektion weisen eine weitgehende Uebereinstimmung mit den Verhältnissen bei der Vakzineinfektion auf.

Das, was einer rein humoralen, auf der Virulizidie des Blutes beruhenden Erklärung der Pockenimmunität Schwierigkeiten bereitet, ist die zwischen dem Immunitätszustand des Individuums und dem Antikörpergehalt seines Blutes in vieler Hinsicht bestehende Diskrepanz. Freilich ist der sichere Nachweis der viruliziden Antikörper und vor allem eine genaue Auswertung des viruliziden Serums aus den mehrfach dargelegten Gründen keineswegs einfach. Die technischen Schwierigkeiten sind hier ungleich größer als etwa bei Bestimmung des antitoxischen, bakteriolytischen, agglutinatorischen usw. Titer eines Immunserums. Vor allem spielt die schwankende Virulenz der Lymphe eine störende Rolle. Das ist wohl auch die Ursache, weshalb die Angaben über das Auftreten virulizider Stoffe so sehr auseinandergehen. Mit Recht hat Gins auf diesen Umstand nachdrücklichst hingewiesen. Dennoch aber — und dafür finden sich ja auch in seinen eigenen Versuchen Beweise — kann man sagen, daß die viruliziden Stoffe selbst bei hochimmunen Tieren mitunter nur in geringer Menge vorhanden sind und im Abtötungsversuch nur eine mäßige Wirkung äußern. Es kommt hinzu, daß die antivirulente Kraft des Serums der Immunität des Tieres keineswegs parallel geht. Wir fanden, in Bestätigung anderweitiger Beobachtungen, daß das Serum seiner viruliziden Fähigkeiten in der Regel nach mehreren Monaten größtenteils wieder verlustig geht, während die Immunität noch anscheinend unvermindert fortbesteht. Ähnlich liegen die Dinge ja auch z. B. bei der Typhusimmunität, und es fragt sich eben hier wie dort, ob wir berechtigt sind, eine Immunität, die noch lange nach dem Verschwinden der spezifischen Antikörper wirksam bleiben kann, einzig und allein mit der spezifischen Serumveränderung zu erklären.

In dem Verhalten der Kornea möchten wir an sich, mit Gins, keinen zwingenden Gegen Grund gegen die Antikörpertheorie der Vakzineimmunität erblicken, soweit es sich um die erschwerte, schwächere und auch verspätete Beteiligung dieses Gebildes an der allgemeinen Immunität handelt. Nur eine besonders kräftige Immunisierung mit Hilfe einer virulenten Lymphe

läßt die Korneaimmunität auf die Haut übergehen und umgekehrt. Die ungünstigen Blutversorgungsverhältnisse der Kornea lassen jedoch diesen Zusammenhang einigermaßen begreifen. So scheint es uns auch von Interesse zu sein, daß die Immunisierung der einen Kornea durch die andere nach unseren Beobachtungen nur sehr unvollkommen und jedenfalls wesentlich schwerer gelingt als die wechselseitige Kornea- und Kutanimmunisierung. In diesem Falle sind eben die Zirkulationsschwierigkeiten in beiden Korneae zu überwinden. Wenn man weiterhin aber bedenkt, daß die Immunität der Kornea im Anschluß an eine Kutanimpfung nicht einfach etwas später, sondern erst nach Monaten eintritt, so ist das vom Standpunkt rein serologischer Betrachtungsweise schon weniger zu verstehen. Denn um diese Zeit sind die viruliziden Antikörper, wie wir nachweisen konnten, meist schon stark in der Abnahme begriffen oder selbst ganz verschwunden.

Es bedarf also wohl noch weiterer Prüfung, ob die Vakzineimmunität in der Tat ausschließlich durch serologische Veränderungen und spezifisch virulizide Antikörperwirkung erklärt werden kann.

2. Zur Wirkung der Revakzination.

Die Frage nach Wirkung und Wert der Revakzination wird neuerdings wieder lebhaft erörtert. Insbesondere erheben sich Stimmen, welche einen Einfluß der Revakzination auf die Verstärkung der Immunität bezweifeln, für den Fall, daß die Wiederimpfung ohne Pustelbildung verläuft. Diese Zweifel gründen sich zum Teil auf epidemiologische Beobachtungen, wonach jugendliche Personen relativ kurze Zeit nach der Revakzination gelegentlich von Pocken befallen werden können, zum Teil auf wissenschaftliche Erwägungen. Wenn die Wiederimpfung mit regelrechter Pustelbildung verläuft, so ist eine Erneuerung und Verstärkung der Vakzineimmunität wohl ohne weiteres anzunehmen. Denn die Pustelbildung zeigt die reichliche Vermehrung des Virus an der Impfstelle an, die eine Gegenwirkung auslöst und infolgedessen die Immunisierung des Organismus weiterführt. Wo aber keine Vermehrung des Virus stattfindet, kommt es,

36*

wie man auf Grund der Untersuchungen v. Pirquets über vakzinale Allergie anzunehmen pflegt, auch nicht zu einer Erneuerung der Immunität. Man ist der Meinung, die allergische Frühreaktion und alle anderen nicht mit ausgesprochener Pustelbildung einhergehenden Impfreaktionen bei Wiederimpfungen seien nichts weiter als ein „Immunitätsphänomen“, das lediglich den Immunitätszustand des betreffenden Individuums anzeige, nicht aber eine erneute Steigerung der Immunität bedinge. Das müßte natürlich die Stellungnahme zu der Frage der Revakzination schwerwiegend beeinflussen. Zum mindesten würden die Kriterien, die bisher für die Beurteilung des Impferfolges bei Revakzinierten maßgebend waren, einer Revision bedürfen, und Gins (56) zieht auch tatsächlich diese Konsequenz. Ähnlich äußert sich Paul (57).

Von anderer Seite ist trotzdem an dem Wert der Revakzination auch bei reaktionslosem Verlauf festgehalten worden (Paschen). Dies geschah aber nur auf Grund allgemein biologischer und praktischer Erwägungen. Eine experimentelle Bearbeitung hat die Frage nicht gefunden.

Meine tierexperimentellen Untersuchungen geben nun, wie ich glaube, auf die vorliegende Frage eine unzweideutige Antwort. Sie haben gezeigt, daß eine Wiederimpfung, auch wenn sie völlig reaktionslos verlief, in bezug auf die Produktion von Schutzstoffen im Blutserum ebenso wirksam ist wie eine erfolgreich vollzogene Erstimpfung. Kaninchen, die durch Kutanimpfung vollkommen hautimmun geworden waren, ihre viruliziden Antikörper aber ganz oder größtenteils wieder verloren hatten, reagierten auf die negativ verlaufende kutane Nachimpfung ausnahmslos mit der Neuerzeugung stark wirksamer virulizider Antikörper. Mag man nun diese Stoffe als ausschlaggebend für die Vakzineimmunität ansehen oder nicht, so enthalten unsere Versuchsergebnisse doch wohl den sicheren Hinweis darauf, daß die Revakzination, selbst bei Ausbleiben jeder Hautveränderung, eine Steigerung der Immunität bewirkt. Denn auch für den Fall, daß man etwa die viruliziden Stoffe nur als eine Begleiterscheinung, als ein Symptom der Immunität ansprechen

wollte, so zeigt ihr erneutes vermehrtes Auftreten eben doch an, daß der Organismus die Kutanimpfung mit einer Abwehrreaktion beantwortet hat. Diese letztere mit einer Steigerung der Immunität zu identifizieren, ist gewiß berechtigt.

Inwieweit die Erfahrungen des Tierexperimentes auf den Menschen übertragen werden dürfen, wird sich erst durch Untersuchungen am Menschen erweisen. Es könnte sein, daß die Dinge hier ganz gleich liegen, daß also auch bei Menschen die ohne Pustelbildung verlaufende Revakzination eine vermehrte Antikörperbildung und damit eine gesteigerte Immunität zur Folge hat.

VIII. Zusammenfassung.

1) Durch Kutanimpfung wird bei Kaninchen eine sichere und über viele Monate sich erstreckende Hautimmunität, durch Korneaimpfung eine starke Immunität der geimpften Kornea erreicht.

2) Subkutane Impfung kann ebenfalls zur Hautimmunität führen; Korneaimmunität wird auf diese Weise nur unvollkommen erzielt.

3) Die punktförmige Impfung der Kaninchenkornea verursacht ihre totale Immunität.

4) Nach der Kutaninsertion wird auch die Kornea immun; ihre Sonderstellung bei der Vakzineimmunität zeigt sich lediglich darin, daß die Korneaimmunität viel später, sowie meistens in schwächerem Maße auftritt als die allgemeine Immunität. Sie kann aber auch vollkommen sein. Der Grad der allgemeinen Immunität scheint den Immunitätsgrad der Hornhaut zu bedingen.

5) Durch die Korneaimpfung kann umgekehrt eine allgemeine Immunität (Hautimmunität) hervorgerufen werden. Auch hier ist der Erfolg offenbar von der Stärke der Reaktion (Keratitis) abhängig. Beiderseitige Hornhautimpfung wirkt sicherer als nur einseitige. Die Hautimmunität entwickelt sich nach kornealer Impfung schwächer und langsamer als die Hornhautimmunität oder als die Hautimmunität nach kutaner Impfung.

6) Durch Impfung einer Kornea läßt sich Immunität der anderen Kornea nur schwer erzielen.

7) Nach kutaner Vakzineimmunität treten so gut wie regelmäßig antivirulente Substanzen im Blute der geeimpften Tiere (Kaninchen) auf. Sie sind von wechselnder Stärke. Bisweilen äußert das Immunserum noch in Verdünnungen von 1:100 und 1:200 sichere Abtötungskraft gegenüber hochvirulenter Lymphe.

Die virulizide Wirkung des Blutes ist nach einigen Monaten (ca. 3) gewöhnlich wieder stark gesunken oder ganz verschwunden.

8) Auch nach kornealer Impfung treten virulizide Stoffe im Blute der Kaninchen auf, aber im allgemeinen weniger regelmäßig und weniger wirksam als nach kutaner Impfung. Beiderseitige Keratitis scheint günstigere Bedingungen zu geben als einseitige.

9) Kaninchen, welche durch Kutanimpfung immun gemacht sind und späterhin, nach Verschwinden der viruliziden Antikörper aus dem Blute, einer erneuten Kutanimpfung unterworfen werden, bekommen im Anschluß hieran wieder ein stark virulizides Serum. Dabei ist die Wiederimpfung wegen der noch fortbestehenden Immunität von keiner sichtbaren Reaktion gefolgt.

10) Es wurde in einem Fall die Vererbung der Immunität beobachtet. Das immune Muttertier hatte 5 Tage vor dem Wurf eine erneute kutane Impfung erhalten. Die beiden Jungen zeigten sich 4 Wochen nach der Geburt gegenüber kutaner und kornealer Impfung immun. Bei dem einen Jungen (das andere starb bald) war die korneale Immunität nach $3\frac{1}{2}$ Monaten wieder erloschen. Die Analyse des Falles sprach mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß es sich um eine Vererbung der Immunität auf passivem Wege handelte.

11) Die viruliziden Antikörper spielen bei der Vakzineimmunität eine wesentliche Rolle.

12) Die Sonderstellung der Kornea, bisher vielfach als Beweis für den rein histogenen Charakter der Pockenimmunität angesprochen, kann in dem bisherigen

Sinne nicht aufrecht erhalten werden. Die Schwierigkeit der wechselseitigen Haut- und Kornea-immunisierung läßt sich durch die mangelhafte Blutversorgung der Kornea erklären, wodurch die Uebertragung der viruliziden Antikörper nach beiden Richtungen behindert ist.

13) Da der Gehalt des Blutes an viruliziden Stoffen der Immunität des Tieres nicht immer parallel geht, weder nach Menge noch nach Persistenz der Antikörper, so wäre die Frage weiter zu prüfen, ob die spezifische Serumveränderung die ausschließliche Ursache der Vakzineimmunität darstellt.

Ähnliche Verhältnisse sind allerdings auch bei anderen Infektionskrankheiten bekannt, wo man die erworbene Immunität, trotz des mangelnden Parallelismus, auf den Antikörpergehalt des Blutes zurückführt (z. B. Typhus).

14) Die Tatsache, daß bei den durch kutane Impfung immunisierten Tieren durch die reaktionslos verlaufende Wiederimpfung regelmäßig eine erhebliche Anreicherung der vorher ganz oder teilweise verschwundenen viruliziden Antikörper erzielt werden konnte, kann als Beweis dafür betrachtet werden, daß unter diesen Umständen auch eine weitere Steigerung der Immunität eintritt. Es wäre möglich, daß beim Menschen ähnliche Verhältnisse vorliegen, daß also auch die ohne Pustelbildung verlaufende Revakzination die bestehende Immunität nicht nur anzeigt, sondern zugleich verstärkt.

Literaturverzeichnis.

- 1) Gins, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 82, 1916.
- 2) — Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 9.
- 3) — ebenda, 1920, No. 12.
- 4) Süpfle, Arch. f. Hyg., Bd. 68, 1909.
- 5) — und Eisner, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 60, 1911.
- 6) Paschen, Kraus-Levaditi, Handbuch der Technik u. Methodik der Immunitätsforschung, 1. Erg.-Bd.
- 7) — Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 49.
- 8) Kraus und Volk, Wiener klin. Wochenschr., 1906, No. 21.
- 9) — — Bericht der Kais. Akad. in Wien, Bd. 117, Abt. III, 1907.

- 10) v. Prowazek, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 22, 1905; Bd. 23, 1906; Bd. 26, 1907.
- 11) — Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 72, 1914.
- 12) Grüter, Bericht über die 36. Vers. der Ophthalm. Ges., Heidelberg 1910.
- 13) — Arch. f. Augenheilk., Bd. 70, 1911.
- 14) Tanaka, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 32, 1902.
- 15) Freyer, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 36, 1904.
- 16) Casagrandi, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 39, 1907.
- 17) — zitiert nach Süpfle.
- 18) Tomarkin und Suárez, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917.
- 19) v. Pirquet, Wiener klin. Wochenschr., 1906, No. 47.
- 20) Jobling, Journ. of exper. Med., Vol. 8, 1906.
- 21) Heller und Tomarkin, Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 20.
- 22) Dahm, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 51, 1909.
- 23) Bermbach, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 49, 1909.
- 24) Sugai, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 49, 1909.
- 25) Xylander, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 51, 1909.
- 26) Beintker, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 48, 1909.
- 27) Moses, zitiert nach Tomarkin und Carrière.
- 28) Shiga und Kii, Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., 1910.
- 29) Hallwachs, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 69, 1911.
- 30) Kryloff, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 60, 1911.
- 31) Chauveau, Compt. rend. Acad. d. sc., T. 66, 1868.
- 32) Raynaud, Compt. rend. Acad. d. sc., T. 74, 1877.
- 33) Janson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 10, 1891.
- 34) Cramer and Boyce, Brit. med. Journ., 1893, p. 183. Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 15, 1894.
- 35) Landmann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 18, 1894.
- 36) Rembold, Centralbl. f. Bakt., Bd. 18, 1895.
- 37) Beumer und Piper, Berl. klin. Wochenschr., 1895, No. 34.
- 38) Straus, Chambon et Ménard, La Semaine méd., 1890, No. 57.
- 39) Béclère, Chambon et Ménard, Annal. Pasteur, T. 10, 1896.
- 40) — — — Annal. Pasteur, T. 13, 1899.
- 41) Hlava und Honl, zitiert nach Süpfle.
- 42) Zagari, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 22, 1897.
- 43) Tedeschi, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 31, 1902.
- 44) Chaumier et Rehns, Compt. rend. de la soc. biol., 1903, No. 10.
- 45) Risel, Hyg. Rundschau, Jahrg. 15, 1905.
- 46) Sternberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, 1896.
- 47) Kinyon, Ref. Hyg. Rundschau, Jahrg. 5, 1895.
- 48) Courmont et Montagard, Ref. Hyg. Rundschau, Jahrg. 12, 19
- 49) Martins, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, 1900, No. 17.
- 50) Arndt, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 47, 1908.
- 51) Nobl, Wiener klin. Wochenschr., 1906, No. 32.
- 52) Knöpfelmacher, Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 44.
- 53) Calmette et Guérin, Annal. Pasteur, T. 15, 1901.

- 54) Sobernheim, Corr.-Blatt f. Schweizer Aerzte, 1919, No. 49.
- 55) Bélin, Revue intern. de la vaccine, 1910. Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, Ref., 1911.
- 56) Gins, Hyg. Rundschau, Jahrg. 29, 1919.
- 57) Paul, Wiener med. Wochenschr., 1915, No. 15.
- 58) Voigt, Hyg. Rundschau, Jahrg. 15, 1905.
- 59) Pfeiffer, Hyg. Rundschau, Jahrg. 16, 1906.
- 60) v. Wasielewski, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 38, 1901.
- 61) Senfft, Berl. klin. Wochenschr., 1872, No. 17.
- 62) Paul, zitiert nach Süpfle.
- 63) Fröhlich, zitiert nach Süpfle.
- 64) Chauveau, zitiert nach Süpfle.
- 65) Warlomont, zitiert nach Süpfle.
- 66) Torikata, Koktopräzipitinogene und Koktoimmunogene. Bern 1917.
- 67) Bizzarri und Palmas, Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. 5, 1912.
- 68) Tessier et Gastinel, C. r. soc. de biol., T. 73, 1912.
- 69) Arzt und Kerl, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 20.
- 70) Klein, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 47.
- 71) v. Korschegg, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 1, und Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 17.
- 72) Habetin, Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 22.
- 73) Gins und Weber, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 82, 1916.
- 74) Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 43, 1903.
- 75) Wolff, Virchows Archiv, Bd. 112, 1888.
- 76) Behm, Berl. klin. Wochenschr., 1882, No. 29, p. 453.
- 77) Palm, Archiv f. Gynäkol., Bd. 62, 1901.
- 78) Süpfle, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 54, 1910.
- 79) v. Prowazek und Miyaji, Centralbl. f. Bakt., Bd. 75, 1915.
- 80) Tomarkin und Carrière, Kolle-Wassermann, Handb. der pathog. Mikroorganismen, 2. Aufl.
- 81) Camus, Journ. de physiol. et pathol. génér., T. 10, 1918.
- 82) Henseval et Couvent, Bull. de l'Inst. Pasteur, T. 10, 1912.
- 83) Haendel, Gildemeister und Schmitt, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 85, Heft 6/7. (8. Tagung der Mikrobiol. Vereinigung.)
- 84) Kirstein, Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 12.
- 85) Mensching, Arch. f. Kinderheilk., Bd. 68, 1920.
- 86) Doerr und Vöchting, Rev. génér. d'ophthalmol., T. 34, 1920, No. 10.

Nachdruck verboten.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses
am Urban, Berlin (Leiter: Prof. Dr. L. Michaelis).]

Untersuchungen über Bakterienkataphorese.

Von Dr. **Erich Putter**,

Assistent am Hygiene-Institut der Universität Greifswald.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Mai 1921.)

Die von dem russischen Physiker Reuss¹⁾ entdeckten Erscheinungen der Kataphorese und Elektromose sind schon seit mehr als 100 Jahren bekannt. Doch erst Quincke²⁾ hat 1861 durch umfassende systematische Versuchsreihen die verwickelten Zusammenhänge erkannt, die ihre exakte mathematische Formulierung durch v. Smolochowski³⁾ vor wenigen Jahren erhalten haben.

Die Methode der kataphoretischen Untersuchung hat von Jahr zu Jahr zunehmende Bedeutung erlangt. Denn sie ist in hohem Maße geeignet, Einblicke in das Wesen der organisierten und nicht organisierten Materie zu gewähren. Besonders in der Kolloidchemie hat sie zu wertvollen theoretischen wie praktischen Ergebnissen geführt.

Michaelis⁴⁾ konnte mit ihrer Hilfe die Ladung und den isoelektrischen Punkt der Fermente und einer Reihe anderer chemisch und biologisch wichtiger Substanzen ermitteln. Svedberg und Andersson⁵⁾ erforschten die qualitativen und quantitativen Ladungsgrößen hochdisperser Kolloide. Ellis⁶⁾ untersuchte das kataphoretische Verhalten von Oel-emulsionen. In neuerer Zeit hat v. Szent-Györgyi⁷⁾ eine Reihe von

1) Mémoires de la Soc. impér. des naturalistes de Moscou, 1807, T. II, p. 332; 1808, T. II, p. 327.

2) Annal. der Phys. u. Chemie, Bd. 113, 1861, p. 513.

3) Grätz, Handbuch der Elektrizität u. des Magnetismus, Bd. 2, 1912, p. 382.

4) Literatur erschöpfend in Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, Berlin 1914.

5) Kolloidzeitschrift, Bd. 24, 1919, p. 156.

6) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 78, 1911, p. 321.

7) Biochem. Zeitschr., Bd. 110, 1920, p. 116 u. 119; Bd. 113, 1921, p. 29 u. 36.

Studien über Eiweißreaktionen mit Hilfe kataphoretischer Untersuchungen durchgeführt.

In hohem Maße befruchtend hat die Kataphorese auf die Zellbiologie gewirkt. Bechhold¹⁾ wies die anodische Wanderung der Bakterien nach. Es zeigte sich, daß alle Bakterien, agglutininbeladene und Normalbakterien, lebende und gekochte, zur positiven Elektrode wandern. Auch Cenovodeanu und Henri²⁾ fanden bei den meisten Bakterien anodische Wanderungstendenz, so bei Milzbrand-, Coli-, Typhus-, Tuberkelbazillen und *Staphylococcus aureus*. Nur *Bac. Flexner* wanderte kathodisch. Salus³⁾ hat seine Untersuchungen auf Typhus und Coli beschränkt und fand beide zur Anode gehend. Teague und Buxton⁴⁾ wiesen ebenfalls die anodische Wanderung der Normalbakterien und der Agglutininbakterien nach. Durch Salzsäurezusatz vermochten sie bei *Pyocyaneus* die Wanderungsrichtung umzukehren, desgleichen bei allen anderen untersuchten Bakterien, sobald sie mit Agglutinin beladen wurden. Lillie⁵⁾ untersuchte Spermatozoen, kleine und große Leukozyten, Kerne von lymphoidem Gewebe, rote Blutkörperchen und Muskelzellen. Es gelang ihm, eine Abhängigkeit der Wanderungsrichtung der Zellen von dem Gehalt an sauren resp. basischen Protoplasmabestandteilen nachzuweisen. Es wanderten nämlich Zellen mit vorwiegendem Nukleinsäuregehalt, wie Spermatozoen, kleine Leukozyten, Lymphocyten zur Anode, Zellen mit reichem cytoplasmatischen Anteil zur Kathode. Lillie geht auf Grund seiner kataphoretischen Untersuchungsergebnisse so weit, eine elektrische Theorie der Mitose aufzustellen. Commandon⁶⁾ fand Malaria plasmodien, Hühnerspirochäten, *Recurrentispirochäten* kathodisch wandern, *Spirochaeta pallida* anodisch oder unbeweglich. Höber⁷⁾ baute auf seinen Versuchen mit roten und weißen Blutkörperchen von Mensch und Frosch, sowie mit Hefezellen eine Theorie der elektiven Ionenpermeabilität der Zellmembranen auf. Einer eigenartigen Methode bediente sich Dineur⁸⁾; er brachte zwei Glaskapillaren, in denen sich Platinelektroden befanden, in die Bauchhöhle des Frosches und konnte dann zeigen, daß die Leukozyten in der Regel die Anodenröhre hinaufwanderten; unter bestimmten Bedingungen, wie Entzündungen, soll auch ein kathodisches Wandern bemerkbar sein. v. Szent-Györgyi⁹⁾ fand bei Bakterien anodische Wanderung, bei Trypanosomen häufig kathodische. Kosaka und Seki¹⁰⁾ haben die Blutkörperchen verschiedener Tiere untersucht. Sie fanden alle anodisch wandernd, allerdings mit sehr unterschied-

1) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 48, 1904, p. 385.

2) Compt. rend. de la Soc. d. Biol., T. 61, 1906, p. 200.

3) Biochem. Zeitschr., Bd. 84, 1917, p. 378.

4) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 57, 1907, p. 77.

5) Amer. Journ. of Physiology, Vol. 8, 1903, p. 273.

6) Zitiert nach Traube, Biochemie, Zeitschr., Bd. 69, 1915, p. 309.

7) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 101, 1904, p. 607; Bd. 102, 1904, p. 196.

8) Bull. de la Soc. belge de Microscopie, T. 28, 1891/92, p. 113.

9) Biochem. Zeitschr., Bd. 113, 1921, p. 29.

10) Communication of the Okayama Medical Society, 1921, No. 372.

licher Geschwindigkeit. Nur die Kaninchenblutkörperchen wandern in Kochsalzlösung kathodisch, in Zuckerlösung ebenfalls anodisch. Hämolytisches Immunserum entlädt die Blutkörperchen, Normalserum ist ohne Einfluß auf die Ladung.

Wenn trotz der zahlreich vorliegenden Untersuchungen die Bakterienkataphorese nochmals zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht werden soll, so geschieht es deshalb, weil bei den meisten bisherigen Arbeiten der Einfluß der Wasserendosmose und eine Reihe anderer Momente, die weiter unten Erwähnung finden werden, nicht genügend berücksichtigt zu sein scheint.

Auf Anregung von Herrn Professor Michaelis, unter seiner Leitung und Unterstützung, für die ich ihm zu besonderem Danke verpflichtet bin, habe ich die folgenden Untersuchungen durchgeführt.

Die Eigenschaften kolloidaler Lösungen und gröberer Suspensionen gehen ganz allmählich ineinander über. Alle Erscheinungen, die man an den ersteren studieren kann, vermag man mit gewissen Modifikationen auch an den letzteren nachzuweisen. Die Technik der Versuche ist um so ähnlicher, je beständiger eine solche Suspension ist. Werden die Teilchen sehr grob, so verschleiert der starke Einfluß der Schwere die Erscheinungen durch die schnelle spontane Sedimentierung. Es lassen sich also Aufschwemmungen von Bakterien mit denselben technischen Hilfsmitteln untersuchen wie kolloidale Lösungen. So entsprechen, um ein Beispiel zu nennen, die Agglutinationen den Flockungen. Auf der einen Seite sind spezifische Immunsere das wirksame Agens, auf der anderen Schwermetallionen oder H-Ionen. Auch die elektrische Kataphorese läßt sich in beiden Fällen analog durchführen, wenn die Suspensionen einigermaßen stabil sind, wie das z. B. bei den roten Blutkörperchen der Fall ist; allerdings kommt hier schon als störendes Moment die leichte Sedimentierungsfähigkeit hinzu. Richtet man die Versuchsanordnung jedoch so ein, daß die einzelnen Versuche nur kurze Zeit dauern, so kann man von ihr absehen. Prinzipieller Natur ist aber der Unterschied gegenüber den kolloidalen Suspensionen nicht. Denn auch bei ihnen tritt eine spontane Sedimentierung ein, die allerdings nicht zu einer so weitgehenden Absetzung führt,

sondern zu einer Gleichgewichtslage der Verteilung (Perrin, Svedberg).

Eine der auffälligsten Erscheinungen dieser Suspensionen in weitestem Sinne ist die elektrische Ladung der dispersen Phase gegen das Dispersionsmittel. Zur Erkennung des Ladungssinnes und seiner Größe gibt es zwei Methoden, die Elektrophorese und die Elektroendosmose. Die Resultate beider Methoden sind in allen Fällen, in denen sie beide anwendbar sind, identisch. Wandern die freischwebenden Teilchen zur Anode, so wandert das Dispersionsmittel bei unbeweglichen, als Diaphragma wirkenden Teilchen zur Kathode. Nach denselben Prinzipien läßt sich auch die Ladung ganzer lebender Zellen, wie Blutkörperchen, Bakterien, Körperzellen, gegen das Suspensionsmittel untersuchen. Die endosmotische Versuchsanordnung ist hier jedoch nur selten anwendbar. Im allgemeinen wird man auf die Kataphorese angewiesen sein. Bei der Kataphorese sind eine makroskopische und eine mikroskopische Technik zu unterscheiden. Die makroskopische hat einen beschränkten Anwendungsbereich. Sie findet ihre Grenze an der Stabilität der Suspensionen. Für Bakterienaufschwemmungen ist sie unter gewissen Bedingungen noch brauchbar, für Blutkörperchensuspensionen kaum. Denn die Zeitdauer der einzelnen Versuche ist so groß, daß hier schon die spontane Sedimentierung das Versuchsergebnis in störendem Maße verschleiert. Ferner erfordert sie so viel Material, daß sich systematische Versuchsreihen meistens nicht werden durchführen lassen. Man wird vielmehr nur gelegentlich als Kontrollversuch auf sie zurückgreifen. In diesen Fällen ist man also auf die mikroskopische Technik angewiesen.

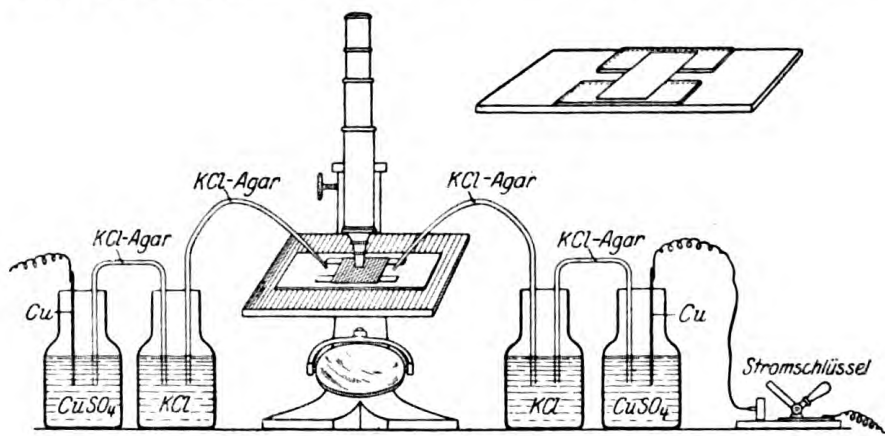
Das Prinzip der mikroskopischen Methode besteht darin, daß man in eine zur mikroskopischen Beobachtung geeignete Kammer die zu untersuchende Suspension hineinbringt und nun ihre Wanderungsrichtung unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes verfolgt. Statt des einfachen Mikroskops kann man natürlich für kleinere Objekte Ultramikroskop, bezw. Dunkelfeld benutzen.

Die Einrichtung einer geeigneten Apparatur erfordert eine genaue theoretische Ueberlegung der zu erwartenden Vorgänge. Folgende Punkte sind dabei von Bedeutung: 1) Zu-

führung des Stromes unter Vermeidung chemischer Veränderungen der Flüssigkeit an den zuführenden Elektroden, besonders Säure- und Alkalibildung; 2) Einfluß der Glaswand auf die Bewegungserscheinungen.

1. Ueber die Art der Stromzufuhr.

Es handelt sich als Wichtigstes darum, daß alle Polarisationserscheinungen ausgeschaltet werden. Da, wie wir sehen werden, die Wanderungsrichtung von dem Gehalt an Elektrolyten, besonders Säuren und Laugen, stark abhängig ist, darf sich an Anode oder Kathode keine Säure oder Alkali entwickeln. Man könnte zwar Metall-(Platin-)elektroden wählen und sie so weit



vom Beobachtungsort entfernt in die zu untersuchende Suspension tauchen, daß die entstehenden elektrolytischen Produkte während der kurzen Beobachtungszeit des einzelnen Versuches nicht an den Beobachtungsort selbst hingelangen könnten. Und tatsächlich hat Svedberg bei seiner Versuchsanordnung mit äußerst kurzer Beobachtungszeit und photographischer Registrierung der Ergebnisse solche Elektroden verwandt. Doch für eine längere Versuchsdauer, wie sie bei der Beobachtung mit dem Auge notwendig ist, sind die Metallelektroden nur ein schlechter Notbehelf. Denn die hydrolytische Spaltung ist mit einer Entwicklung von Gasblasen verbunden, durch deren fortwährendes Entstehen und Zusammenfließen dauernd Erschütterungen bewirkt werden, die die Strömungsrichtung in unkontrollierbarer Weise beeinflussen. Unpolarisier-

bare Elektroden sind deshalb entschieden vorzuziehen. Wir benutzten als solche gebogene Glasröhren (siehe Figur), die mit einer 3-proz. Agargallerte gefüllt waren. Die Agargallerte wurde mit KCl gesättigt. Die zu Spitzen ausgezogenen Enden der Glasröhren tauchten in die zu untersuchende Flüssigkeit, die die mikroskopische Kammer beiderseits um Deckglasbreite überragte, möglichst weit vom Beobachtungsort entfernt. Das andere Ende der Glasröhre tauchte in eine Flasche mit gesättigter Kaliumchloridlösung. Diese Flasche wurde durch einen ähnlichen Kaliumchloridagarheber mit einer zweiten verbunden, die 10-proz. Kupfersulfatlösung enthielt. In die Kupferlösung wurde ein Kupferdraht als zuführende Elektrode eingetaucht. Als Stromquelle diente der Leitungsstrom von 110 Volt Gleichstrom. Gelegentlich wurde für einzelne Untersuchungen, für die das Potentialgefälle zu stark erschien, die Kupfersulfatlösung stark verdünnt und als Vorschaltwiderstand benutzt. Zur Vervollständigung der Apparatur ist nur noch ein Stromwender und ein Stromschlüssel erforderlich. (Figur aus Michaelis, Praktikum der physikalischen Chemie, Berlin 1921, p. 101.)

2. Der Einfluß der Glaswand auf die Bewegungserscheinungen.

Auch die Wand der mikroskopischen Kammer, ob sie nun aus Glas oder Quarz besteht, hat einen Einfluß auf die Bewegungserscheinungen. Wie alle festen Teile, so zeigt auch die Wand des Glases im allgemeinen eine Potentialdifferenz gegen die Lösung, deren Größe und Sinn mit der Natur des Lösungsmittels, mit seinem Gehalt an gelösten Stoffen variiert. Im allgemeinen hat Glas gegen eine wässrige Lösung eine negative Ladung. In sehr stark sauren Lösungen sinkt sie nahezu auf 0. Bei Gegenwart dreiwertiger Kationen, wie Al^{+++} , La^{+++} , wird der Ladungssinn umgekehrt, also positiv. Wir können uns heute die Ursache dieser Ladung in folgender Weise erklären: Die Oberfläche des Glases adsorbiert Ionen, und zwar im allgemeinen nur Kationen. Die den adsorbierten Kationen äquivalente Menge Anionen wird elektrostatisch in der Nähe der adsorbierten Kationenschicht festgehalten. So bildet sich eine elektrische Doppelschicht, die zur Hälfte aus

den an der Glasoberfläche fest adhärierenden Kationen besteht, zur anderen Hälfte aus den elektrostatisch festgehaltenen Anionen der Lösung, die in der Randzone des Wassers liegen. Wird nun tangential zur Glasoberfläche ein äußeres Potentialgefälle angelegt, so daß z. B. das rechte Ende des Deckglases positiv gegen das linke Ende ist, so wird ein Zug auf die Doppelschicht ausgeübt, und zwar so, daß der äußere Beleg der Doppelschicht, die am Glas adhärente Kationenschicht, tangential nach dem rechten Objektträgerende gezogen wird. Sie kann aber diesem Zug nicht nachgeben, da sie als so fest adhärent vorzustellen ist, daß sie von der Glaswand nicht gelöst werden kann. Die innere Anionenschicht aber, die in der Randzone des Wassers sich befindet, wird tatsächlich in Bewegung gesetzt, und zwar in umgekehrter Richtung.

Nun kann sich irgendein korpuskuläres Gebilde im Wasser nicht bewegen, ohne die umgebenden Teile des Wassers mitzunehmen, eine Folge der molekularen Attraktion. Speziell für die Ionen ist es bekannt, daß sie mehr oder weniger fest mit den umgebenden Wassermolekülen verbunden sind. Man spricht von einer Hydratation der Ionen. Sie ist für verschiedene Ionenarten verschieden groß. Dieses Hydratwasser wird also von den Ionen mitgeschleppt; seinerseits reißt es wieder mehr oder weniger von den angrenzenden Wassermolekülen infolge der Molekularkohäsion mit, eine Erscheinung, die wir als innere Reibung des Wassers bezeichnen. Bei einem gewöhnlichen Ueberführungsversuch einer wässerigen Salzlösung in offenem U-Rohr bemerkt man natürlich nichts von dieser Verschiebung, denn der hydrostatische Druck macht sie in jedem Augenblick wieder rückgängig. Wenn wir in einem offenen U-Rohr einen Strom durch eine Salzsäurelösung schicken, so muß das anodisch wandernde Chlorion, als das stärker hydratisierte, mehr Wasser zur Anode schleppen, als das H-Ion zur Kathode. Das Wasser müßte demnach an der Anode in die Höhe steigen. In einem offenen U-Rohr ist das natürlich nicht möglich. Ebensoviel Wasser, wie in jedem Augenblick aufsteigt, fließt im selben Moment auch wieder zurück und macht durch diese rückläufige Bewegung die Wanderung des Chlorions zum Teil rückgängig. Daraus resultiert eine Bewegungshemmung der stärker hydratisierten

Ionen gegenüber den schwächer hydratisierten, hier waren es Cl-Ion und H-Ion. Wir nennen sie die „geringere Wanderungsgeschwindigkeit“ der Cl-Ionen im Vergleich mit den H-Ionen.

Mit dieser an die elektrolytischen Vorgänge gebundenen Wasserbewegung darf also die oben erwähnte Elektroendosmose nicht verwechselt werden, die man auch in einem offenen U-Rohr sehr wohl sichtbar machen kann. Unterwirft man nämlich, wie Ellis es getan hat, eine feindisperse Oelemulsion der Kataphorese in einem offenen U-Rohr, so bemerkt man folgendes: Die ganze Oelsäule verschiebt sich nach dem positiven Pol, da die negativ geladenen Oelkügelchen nach der Anode wandern. Das gegen die Glaswand positiv geladene Wasser hat aber im Bereich der äußeren Begrenzungsschichten der Flüssigkeitssäule die Tendenz, nach der Kathode zu wandern. Infolge dessen ist der Flüssigkeitsspiegel an der Anodenseite nicht, wie man es bei einer Oelemulsion erwarten sollte, konkav, sondern konvex. Auf der anderen Seite dagegen liegen die Verhältnisse genau entgegengesetzt. Hier hat das Oel die Tendenz, sich von der Kathode fortzubewegen, die Randschichten des Wassers aber strömen der Kathode zu. Deshalb sieht man hier einen konkaven Meniskus, der eine stärkere Höhlung noch dadurch erhält, daß die am Rande kathodisch strömenden Wassermassen in der Achse des Rohres wieder zurückfließen können und sich auf die anodische Wanderung der Oelkügelchen auflagern.

In einer mikroskopischen Kammer, ob sie nun horizontal oder U-förmig gestaltet ist, liegen die Verhältnisse nun ebenso, treten sogar noch viel deutlicher in Erscheinung. Denn man kann hier die endosmotische Bewegung des Wassers, die ja nur in der Randschicht zur Wirkung kommen kann — die Wassersäule wird gewissermaßen „an ihrer Oberflächenhaut durch das kapillare Rohr gezogen“ (v. Smolochowski) — direkt im Mikroskop beobachten. Wenn die Kammer allseitig geschlossen ist, so muß das elektrosmotisch wandernde Wasser auch hier in der Mitte der Kammer zurückströmen. Ist die Kammer offen, so liegen die Verhältnisse aus folgendem Grunde ähnlich: Der beiderseits sich über das Deckglas hinaus ausbreitende Flüssigkeitstropfen benetzt den Objektträger, wenn

es sich um Wasser als Dispersionsmittel handelt, natürlich unvollkommen, er kriecht also nicht über die ganze Oberfläche des Objektträgers hin, sondern bleibt als halbkugliger Tropfen stehen. Wird diesem Tropfen nun durch die elektrische Endosmose von der Schicht unter dem Deckglas neue Flüssigkeit zugeführt, so vergrößert er sich im wesentlichen nicht dadurch, daß er weiter über den Objektträger sich ausbreitet, sondern indem er sich hochwölbt. Der entstehende hydrostatische Ueberdruck setzt aber der Vergrößerung des Tropfens eine Grenze. Nach deren Erreichung muß das Wasser nach der Stelle des geringsten Widerstandes ausweichen, und das ist natürlich die unter dem Deckglas befindliche mittlere Flüssigkeitsschicht. Dieser Wasserstrom muß nun seinerseits wieder kleine, in ihm befindliche Partikelchen mitreißen. Es kommt also zu einer Bewegung der Teilchen, die mit ihrer Eigenbewegung relativ gegen das Wasser interferiert.

Für den Bewegungsvorgang in einer mikroskopischen Kammer, z. B. in dem Spalt zwischen Objektträger und Deckglas, in dem sich eine Suspension, etwa von Bakterien, befindet, und durch den wir einen elektrischen Strom schicken, ergibt sich also folgendes Bild: Unter der Annahme, daß die Bakterien gegen das Wasser eine negative Ladung haben und das Wasser gegen das Glas eine positive Ladung, d. h. also, daß das Wasser sowohl gegen Bakterien wie gegen Glas positiv geladen ist, werden die Bakterien in eine Bewegung versetzt, die die entgegengesetzte Richtung haben muß, wie das Wasser. Kleine Teilchen, die nun im Wasser suspendiert sind, werden mit der gleichen oder annähernd der gleichen Geschwindigkeit mitgerissen. Die endosmotische Geschwindigkeit des Wassers nimmt nun mit steigender Entfernung von der Glaswand ab und kehrt sich in der Mitte in den oben erwähnten Gegenstrom um. Die nun wirklich zur Beobachtung gelangte Geschwindigkeit eines Bakteriums ist also die algebraische Summe zweier Geschwindigkeiten, 1) der eigentlichen Bewegung der Bakterien infolge ihrer Ladung gegen das Wasser, 2) der an der betreffenden Stelle gerade herrschenden endosmotischen Wanderung des Wassers infolge seiner Ladung gegen die Glaswand, die, wie oben erwähnt, mit zunehmender Entfernung von der Glaswand immer ge-

ringer wird, den Wert 0 erreicht, um schließlich in der Mitte in die entgegengesetzte Strömungsrichtung umzukehren.

Wir beobachten also mit dem Auge nicht die uns allein wissenswerte Relativbewegung der Bakterien gegen das Wasser, sondern die Relativbewegung gegen den Objektisch.

Denken wir uns die ganze Dicke der Kammer in sehr feine Lamellen zerlegt, so haben die innerhalb jeder Lamelle suspendierten Teilchen die gleiche Geschwindigkeit. Aus den hydrodynamischen Grundgesetzen läßt sich nun die Geschwindigkeit der Wasserteilchen in jeder Lamelle berechnen, wenn wir die Geschwindigkeit an der Grenzfläche und die Tiefe der Kammer kennen. Es läßt sich auch die wahre Geschwindigkeit der suspendierten Teilchen aus der Geschwindigkeit in zwei verschiedenen Lamellen in bekanntem Abstände von der Randschicht und aus der Tiefe der Kammer herleiten. Derartige Versuche hat zuerst Ellis¹⁾ mit einer Suspension von Oeltröpfchen in Wasser ausgeführt. Seine teilweise noch empirische Rechnungsart wurde dann von v. Smolochowski²⁾ theoretisch genau begründet, von Svedberg³⁾ erweitert und durch experimentelle Untersuchungen bestätigt. Von den Resultaten v. Smolochowskis ist folgendes für unsere Zwecke von besonderer Wichtigkeit: Bezeichnen wir die Tiefe der Kammer mit d , die Entfernung eines Teilchens vom oberen Rande der Kammer mit x , so gibt es zwei Werte für x , bei welchen die Bewegung der Wasserteilchen gleich 0 ist, nämlich bei $x = d \left(\frac{1}{2} \pm \sqrt{\frac{1}{12}} \right)$, d. h. in einer Tiefe von etwa 0,2 d und 0,8 d .

Die Beobachtung in diesen Tiefen zeigt also die wirkliche Geschwindigkeit und Richtung der Bakterien relativ zum Wasser an. Hier liegt der 0-Punkt der endosmotischen Wasserbewegung. Hier kehrt der Randstrom gerade in den zentralen Gegenstrom um. Auf diese Weise haben wir also eine einfache Möglichkeit in der Hand, die wahre Kataphorese der Bakterien direkt mit dem Auge zu beobachten.

Die Kammer, in der wir die Beobachtungen durchführten, war folgendermaßen gestaltet: Zwei Glasleisten von etwa Deck-

- 1) l. c.
- 2) l. c.
- 3) l. c.

glasdicke und Rechteckform wurden mit Kanadabalsam auf einen Objektträger so aufgeklebt, daß die langen Seiten der Glasleisten mit den Längsseiten des Objektträgers in der gleichen Linie verliefen und eine ca. 1 cm breite Rinne zwischen sich frei ließen. Nach völligem Trocknen des Balsams wurden eventuell übergequollene Tropfen sorgfältig entfernt und der Objektträger gründlich gereinigt. Man legt nun ein Deckglas auf die so entstandene Glasbrücke und läßt die zu untersuchende Suspension aus einer Kapillarpipette unter das aufgelegte Deckglas fließen, was infolge der kapillaren Attraktion der Flüssigkeit durch die Glaswände leicht gelingt. Es empfiehlt sich, das Deckglas mit etwas Vaseline auf den Glasleisten festzukleben, damit es durch den Tropfen nicht von der Unterlage abgehoben wird; andernfalls ändert sich die Dicke der Kammer bei jedesmaliger Füllung. Tiefere Kammern sind aus optischen Gründen nicht geeignet, da man sie mit stärkeren Vergrößerungssystemen nicht durchdringen kann. Spaltförmige Kammern, bei denen das Deckglas ohne Stütze auf der Flüssigkeit schwimmt, sind jedenfalls schlecht zu brauchen, da in ihnen völlig unkontrollierbare unregelmäßige Strömungen entstehen, die zu den schwersten Irrtümern Anlaß geben können. Auch wird mit jeder Bewegung der Frontlinse des Mikroskops nach oben oder unten die Spaltdicke verändert, so daß sich Beobachtungen in bestimmten Tiefen überhaupt nicht durchführen lassen.

Die Dicke der Kammer wurde durch die Umdrehungen der Mikrometerschraube des Mikroskops gemessen, die notwendig waren, um die Bildschärfe von dem oberen nach dem unteren Kammerrand zu verlegen. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Bakterien wurde in der Weise festgestellt, daß mit einer Stoppuhr die Zeit gemessen wurde, die verstrich, bis ein bestimmtes Bakterium die Entfernung von einem Strich des Mikrometerokulars bis zu einem willkürlich gewählten zweiten zurückgelegt hatte. Der stationäre Zustand stellt sich nach dem Stromschluß in sehr kurzer Zeit ein, so daß man die zeitlich aufeinanderfolgenden Beobachtungen durchaus vergleichen konnte.

Die Versuche unter Zugrundelegung einer derartigen Technik gestalteten sich folgendermaßen:

Von einer 24-stündigen Schrägagarkultur wurde eine Normalöse in etwa 1 ccm Flüssigkeit gleichmäßig verrieben, so daß man eine trübe Suspension erhielt. Von dieser Bakterienaufschwemmung wurde mit einer Kapillarpipette so viel auf den zur Kammer umgestalteten Objektträger gebracht, daß der Raum unter dem Deckglas völlig luftblasenfrei ausgefüllt war. Der Kanal zu beiden Seiten des Deckglases wurde ebenfalls mit der Flüssigkeit gefüllt. In diese überragenden Flüssigkeitsschichten wurden in der oben beschriebenen Weise die unpolarisierbaren Elektroden eingetaucht und nunmehr im Mikroskop beobachtet. Sobald die Strömung, die zuerst noch für eine kurze Zeit sichtbar blieb, bis der hydrostatische Druck überall ausgeglichen ist, zur Ruhe gekommen war, wurde der elektrische Strom geschlossen und nach dem Verlauf einiger Sekunden, sobald der Strömungszustand stationär erschien, die Messung durchgeführt.

Es sei besonders hervorgehoben, daß es notwendig ist, nach Stromschluß einige Sekunden zu warten, bevor mit der Protokollierung der Beobachtungsergebnisse begonnen wird. Das hat seinen Grund in folgenden Verhältnissen. Man schließt den Strom für einige Zeit, bis man eine stationäre Strömungsgeschwindigkeit in den einzelnen Kammerschichten konstatieren kann. Jetzt öffnet man den Strom. Im selben Augenblick stehen die Randströme still, die rückläufige Mittelschicht aber erfährt momentan eine erhebliche ruckartige Beschleunigung ihrer Bewegung in der bisherigen Richtung. Erst allmählich erlischt die Bewegung der Mittelschicht und es dauert häufig mehrere Sekunden bis zu einer halben Minute, bis völlige Ruhe eingetreten ist. Ganz dementsprechend ist nun das Bild, das man bei der Stromwendung beobachtet. Im Augenblick der Stromwendung kehren die endosmotischen Randströmungen sofort ihre Richtung um und erreichen sofort ihre alte Geschwindigkeit, nunmehr in entgegengesetzter Richtung. Die Mittelschicht dagegen erfährt wieder, wie bei der einfachen Stromöffnung, dieselbe ruckartige Beschleunigung in der ursprünglichen Richtung. Ganz allmählich wird die Strömungsgeschwindigkeit der Mitte geringer, bis sie für einen Augenblick zum Stillstand kommt, um dann langsam in eine Bewegung der entgegengesetzten Richtung umzuschlagen, die

nach einigen weiteren Sekunden ihre definitive Stärke erreicht. Dieser Zustand bleibt dann für die ganze Dauer des Stromschlusses stationär, bis sich das Spiel von neuem wiederholt, sobald der Strom wieder geöffnet, bzw. gewendet wird.

Zur Erklärung dieser Erscheinungen ist folgendes zu bedenken. Die Randschichten stehen unter reiner endosmotischer Kraftwirkung. Ihre Bewegung setzt infolgedessen jedesmal sofort mit Stromschluß ein und mit Stromöffnung aus. Die Bewegung der Mittelschicht dagegen setzt sich aus zwei Komponenten zusammen, einmal dem oben erwähnten Rückstrom des am Rande endosmotisch fortbewegten Wassers, zweitens aus der inneren Reibung der beiden äußeren Strömungsschichten gegen die entgegengesetzt fließende Mittelschicht. Diese innere Reibung wird also auf die Bewegung der Mittelschicht bremsend wirken. Die Bewegung wird verlangsamt. Im Augenblick der Stromunterbrechung aber fällt die Bremswirkung der nunmehr stillstehenden Außenschichten fort und es kann jetzt die Mittelschicht mit ihrer eigentlichen Rückflußgeschwindigkeit weiterfließen, eine Bewegung, die infolge der Trägheit noch eine gewisse Zeit andauert, bis sie schließlich zum Stillstand kommt. Entsprechend liegen die Verhältnisse bei der Stromwendung. Ihre Erklärung ergibt sich nach dem eben Gesagten von selbst.

Unter Berücksichtigung der geschilderten Verhältnisse also ergaben sich die in folgender Tabelle zusammengestellten Resultate (siehe p. 551).

Man sieht aus dieser Zusammenstellung, daß tatsächlich, wie man es der Theorie gemäß erwarten sollte, die Richtung und Geschwindigkeit der Bakterien von der Kammertiefe abhängig ist. In fast allen Fällen bewegt sich die Mittelschicht der Randschicht entgegengesetzt. Der theoretisch richtige Wert zur Beurteilung der Bakterienkataphorese liegt bei $\frac{1}{5}$ und $\frac{4}{5}$ der Kammertiefe. Die Theorie erfordert, daß in diesen beiden Schichten die Bewegungsgeschwindigkeit gleich sei.

Annähernd ist es auch in Wirklichkeit der Fall. Die Abweichung von diesem richtigen Wert in den anderen Kammer-schichten hängt von den Versuchsbedingungen ab. Wie bereits erwähnt, haben im allgemeinen Glas und Bakterien eine Ladung gleichen Sinnes gegen das Wasser, und zwar in

Bakterienart	Suspensionsflüssigkeit	Kammertiefe $d = \frac{mm}{100}$	Bewegungsrichtung und -Geschwindigkeit in Sekunden in den Kammertiefen					Agglutination
			0,1 d	0,2 d	0,5 d	0,8 d	0,9 d	
Bact. coli	NaCl 0,85 %	24	k 7	a 5	a 3	a 5	k 6	0
" "	HCl $\frac{m}{1000}$	24	k 4	a 2	a 1	a 2	k 5	+++
" "	" $\frac{m}{10}$	24	0	0	0	0	0	+
" "	CaCl ₂ $\frac{m}{1000}$	24	k 10?	a 2,5	a 1	a 2	0	±
" "	" $\frac{m}{100}$	24	?	a 3	a 2	a 4	0	0
" "	" $\frac{m}{10}$	24	k 25?	a 12	a 8	a 12	k 10?	0
" "	" $\frac{m}{1}$	24	0	0	0	0	0	+++
" "	AlCl ₃ $\frac{m}{100\ 000}$	24	k 5	a 3	a 1	a 3	?	+
" "	" $\frac{m}{10\ 000}$	24	k 5	a 3	a 2	a 4	k 7	++
" "	" $\frac{m}{1000}$	24	a 3	k 6	k 4	k 6	a 3	+++
" "	" $\frac{m}{100}$	24	?	k 4	k 3	k 4	a 8	+++
" "	H ₂ SO ₄ $\frac{m}{100}$	24	0	0	0	0	0	+++
" "	CH ₃ COOH $\frac{m}{100}$	24	?	a 2	a 2	a 3	k 25?	+++
" "	" $\frac{m}{10}$	24	a 5?	a 4	a 3	a 5	0	++
" "	" $\frac{m}{1}$	24	0	a 6	a 5	a 10	a 50?	++
" "	C ₆ H ₅ (NO ₂) ₃ OH $\frac{m}{100}$	24	0	a 8	a 5	a 9	k 15	+++
" "	NaCl 0,85 % + Pepton	24	k 7	a 4	a 2	a 4	k 8	0
" "	CH ₃ COOH $\frac{m}{1}$ + Pepton	24	a 20	k 5	k 3	k 8	a 25	++
" "	" $\frac{m}{10}$ "	24	a 5	k 3	k 1,5	k 3	a 6	++

a = anodisch, k = kathodisch.

alkalischen und schwach sauren Lösungen negative Ladung, die bei steigender H-Ionenkonzentration geringer wird, bis schließlich Entladung eintritt. Bei Peptongegenwart lassen sich die Bakterien durch Säuren umladen. Dreiwertige Kationen drehen den Ladungssinn auch ohne Peptongegenwart um. Wie sich aus der Tabelle ferner ergibt, pflegt die Geschwindigkeit in der Kammermitte nicht wesentlich von der in den theoretisch richtigen Schichten abzuweichen, bleibt entgegen unserer Annahme sogar hinter dieser etwas zurück. Man wird also für die erste Annäherung mit richtigen Werten

rechnen können, wenn man die Beobachtung auf die Mitte der Kammer beschränkt. Die Geschwindigkeit der äußersten Randzonen zahlenmäßig anzugeben, ist sehr schwer, die erhaltenen Zahlen sind sehr unzuverlässig. Denn ihre Größe ändert sich zu stark mit den geringsten Unterschieden der Beobachtungstiefe. Die Untersuchung wird auch dadurch erschwert, daß sich in der allerobersten Schicht nur sehr wenig Bakterien befinden außer denen, die am Deckglas angeklebt sind. Am Kammerboden tritt diese Neigung der Bakterien zum Ankleben noch deutlicher in Erscheinung. Die ersten zahlenmäßigen Angaben für die Randzonen betreffen deshalb etwa eine Beobachtungstiefe von $\frac{1}{20}$ — $\frac{2}{20}$ der Gesamtkammertiefe.

Bei Gegenwart von Pepton werden nicht nur die Bakterien durch Säuren umgeladen, sondern auch die Glaswand. Beide Oberflächen beladen sich offenbar mit Pepton und nehmen seine Eigenschaften an. Sie verhalten sich also dann wie ein amphoterer Elektrolyt. In dieser Beziehung besteht eine weitgehende Analogie mit den Eigenschaften des Kollodiums, dessen negative Ladung zwar durch Säuren, wie Jacques Loeb¹⁾ und Gyemant²⁾ gezeigt haben, vermindert, aber nie umgekehrt wird. Ein Unterschied besteht dagegen im Verhalten gegenüber dreiwertigen Kationen, die Bakterien und Glas umzuladen vermögen, nicht aber Kollodium. Bei Gegenwart von Eiweiß jedoch, z. B. nach Durchtränkung des Kollodiums mit Eiweißlösungen, auch mit Gelatine, laden sowohl Säuren wie dreiwertige Kationen um. Die Analogie mit Kaolin geht aber noch weiter als mit Kollodium, indem das Kaolin, wie Bakterien und Glas, auch ohne Eiweißgegenwart von dreiwertigen Ionen umgeladen werden kann.

Da man bei den auf den gebräuchlichen Nährböden gewachsenen Bakterien geringe Spuren von Pepton mit Sicherheit nie ausschließen kann, so ist ihre Umladbarkeit durch dreiwertige Kationen möglicherweise doch auf die Peptongegenwart zurückzuführen.

Wenn ein Kolloid geflockt bzw. agglutiniert wird, so fällt das Flockungsoptimum immer in den Bereich der völligen

1) Journ. of general Physiology 1, 1918.

2) Kolloidzeitschrift, 1921.

Entladung der elektrischen Potentialdifferenzen. Ob umgekehrt bei Entladungen auch jedesmal Flockungen resp. Agglutinationen eintreten, läßt sich a priori nicht voraussagen. So fallen z. B. die globulinartigen Substanzen im isoelektrischen Punkt aus, die albuminähnlichen nicht. Aus der oben zusammengestellten Versuchsreihe mit *Bact. coli* ergibt sich, daß in der Tat in den meisten Fällen Agglutinationen auftreten. Da wir uns aber hier in einem relativ hohen Konzentrationsgebiet der Elektrolyte befinden, darf der antagonistische Cl-Ioneneinfluß nicht unberücksichtigt bleiben. Dementsprechend ist auch die Uebereinstimmung zwischen den kataphoretisch gefundenen isoelektrischen Punkten und dem Agglutinationsoptimum zu bewerten.

2) *Bacterium typhi*.

Aus Gründen der Raumersparnis unterlassen wir es, hier die Versuchsergebnisse für Typhusbazillen ebenfalls in tabellarischer Zusammenstellung zu bringen. Ihr Verhalten ist nämlich mit dem des *Bact. coli* völlig identisch. Was die Agglutination angeht, so scheinen verschiedene Typhusstämmen verschieden zu reagieren, denn sie werden nicht alle agglutiniert.

Im übrigen sind die erhaltenen Resultate eine erneute Bestätigung der früheren Untersuchungen von Michaelis¹⁾ und Beniasch²⁾, nach denen das Agglutinationsoptimum der Typhusbazillen bei einer Wasserstoffionenkonzentration von etwa $4 \cdot 10^{-5}$ keinem singulären Punkt in der elektrischen Ueberführung entspricht. Vielmehr zeigen die Typhusbazillen im Bereich ihres Agglutinationsoptimums ebenso negative Ladung wie oberhalb und unterhalb dieser H-Ionenkonzentration. Das von uns gefundene 2. Agglutinationsoptimum bei einer wesentlich höheren H, nämlich zwischen 10^{-3} und 10^{-2} , dem auch ein Stillstand der elektrischen Wanderung, bzw. eine deutliche Abnahme der Wanderungsgeschwindigkeit entspricht, befindet sich durchaus in Uebereinstimmung mit den Arbeiten Arkwrights³⁾, der aus den Typhusbazillen zwei

1) Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 21, p. 969.

2) Diese Zeitschr., Orig., Bd. 12, 1912, p. 268.

3) Diese Zeitschr., Orig., Bd. 22, 1914, p. 396.

Substanzen isolieren konnte, von denen die eine (nämlich die mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschenen Bazillen) im Bereich ihres Agglutinationsoptimums bei $1,1 \cdot 10^{-3}$ einen Wanderungsstillstand, bei weiterer Zunahme der H-Ionen sogar eine kathodische Wanderung zeigte, während die zweite (der klare wässrige Bazillenextrakt) keine Umkehr der Wanderungsrichtung im Agglutinationsoptimum bei $3,6 \cdot 10^{-5}$ erkennen ließ.

3) Staphylokokken.

Auch hier ließ sich ein Unterschied gegenüber dem Verhalten des *Bact. coli* nicht nachweisen, weshalb die Anführung der Protokolle ebenfalls unterbleibt. Agglutination trat in gleicher Weise bei den entsprechenden Wasserstoff-Ionenkonzentrationen ein.

4) *Bact. proteus* X 19 Weil-Felix.

Kein Unterschied gegenüber dem Verhalten der Colibazillen. Agglutination auch hier prompt.

Alle untersuchten Bakterien zeigen also immer negative Ladung. Nur durch allerhöchste Säurekonzentrationen werden sie schließlich entladen. Umgeladen werden sie nur durch dreiwertige Kationen, in Gegenwart von Pepton auch durch Säuren.

Die Bakterien verhalten sich also wie ausgesprochen elektronegative Substanzen, die selbst unter extremen Bedingungen kaum eine elektropositive Eigenschaft zeigen. Damit stimmt auch ihr Verhalten gegenüber Farbstoffen überein. Sie färben sich ja nur mit basischen, nicht mit sauren Farbstoffen an. Man kann aber durch vorhergehende Beizung eine Anfärbbarkeit auch für saure Farbstoffe erzielen. Behandelt man einen Bazillenausstrich mit Aluminiumchlorid, so beladen sich die Bazillen mit Al-Ionen und nehmen dann, als elektropositive Substanzen, Eosin- oder Kongorotlösung an.

Zur Sicherstellung dieser Ergebnisse erschien es uns erwünscht, mit der Technik der mikroskopischen Kataphorese auch Substanzen zu untersuchen, deren Ladungen schon aus anderen Versuchsanordnungen bekannt sind. Dazu schienen uns Albumin- und Kaseinlösungen geeignet. Die Versuche

mit Albumin führten zu keinem Ergebnis, da der von uns benutzte Spiegelkondensor von Leitz kolloidale Albuminlösungen im Bereich ihres isoelektrischen Punktes nicht auflöste. Die Kaseinversuche dagegen bestätigten unsere obigen Ergebnisse, wie aus folgender Tabelle hervorgeht.

Röhrchen	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Na.-Azetat $\frac{m}{10}$ + Kasein	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Essigsäure $\frac{m}{100}$	0,62	1,25	—	—	—	—	—	—	—
„ $\frac{m}{10}$	—	—	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	—
„ $\frac{m}{1}$	—	—	—	—	—	—	—	—	1,6
Aq. dest.	8,38	7,75	8,75	8,5	8,0	7,0	5,0	1,0	7,4
H-Ionenkonzentrat.	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 20^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$3,2 \cdot 10^{-4}$
Trübungsgrad	klar	—	+	++	+++	++	++	+	klar
Optisches Verhalten	leer	leer	gerade erkennbare Partikelchen	deutlich erkennbare Partikelchen	grobe Flöckchen	grobe Flöckchen	deutlich erkennbare Partikelchen	gerade erkennbare Partikelchen	klar
Wanderungsrichtg.	—	—	anodisch	anodisch	Stillstand	Stillstand	kathodisch	kathodisch	—

Die Versuchsanordnung lehnte sich an die in Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, p. 189, an. Statt der dort genannten Kaseinkonzentration von 0,4 Proz. wurde nur eine 0,2-proz. Kaseinlösung verwandt, um die Ausflockung im isoelektrischen Punkt zu verringern und zu verzögern, weil durch zu große Flocken die Beurteilung unklar wird.

Die Beobachtung der unteren Schichten der Kammer ist bei der Untersuchung im Dunkelfeld dadurch erschwert, daß wir bei jeder Senkung des Tubus einen Druck auf das Deckglas ausüben. Denn die Entfernung der Frontlinse von der zu beobachtenden Schicht erreicht für die Ultrakondensorbeleuchtung gerade die Grenze des technisch Möglichen. Es entsteht jedesmal ein kleiner Strudel, der aber in wenigen Sekunden verschwindet, um dann wieder die kataphoretische Flüssigkeitsbewegung, bzw. die Wasserendosmose, die durch die Wirkung des Stromfeldes hervorgerufen ist, hervortreten zu lassen.

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß der isoelektrische Punkt des Kaseins sich ganz in Uebereinstimmung mit den früher aus makroskopischen Ueberführungs- und Flockungsversuchen bestimmten Entladungspunkt befindet. Eine Inkongruenz der Befunde, wie sie v. Szent-Györgyi berichtet, konnten wir nicht feststellen. Seine abweichenden Ergebnisse beruhen wohl darauf, daß er mit einer ungestützten Kammer gearbeitet und die Abhängigkeit der Bewegungsrichtung von der Kammertiefe nicht genügend berücksichtigt hat.

Die makroskopischen Ueberführungsversuche von Bakterien in dem von Michaelis modifizierten U-Rohr nach Landsteiner-Pauli haben zu eindeutigen Ergebnissen in den meisten Fällen nicht geführt. Da die Versuche für viele Stunden hindurch angesetzt werden müssen, wenn man deutliche Ausschläge wahrnehmen will, so kommt es infolge der Agglutination der Bakterien zu einer raschen Sedimentation, die das Bild verschleiert. Man kann hier vielleicht eher zum Ziele gelangen, wenn man sich des Apparates bedient, den Kosaka und Seki¹⁾ bei ihren Blutkörperchenuntersuchungen angewandt haben, mit dessen Hilfe sie nicht die Blutkörperchenkataphorese, sondern die Elektroendosmose des durch das Blutkörperchendiaphragma hindurchtretenden Wassers beobachteten. Ueber eigene derartige Versuche soll später berichtet werden.

Uebrigens ist man bei der Beobachtung der Blutkörperchenwanderung im mikroskopischen Präparat keineswegs so leicht Versuchsfehlern ausgesetzt, wenn man sich nicht an die richtigen Kammertiefen hält, wie bei der Untersuchung kleinerer Gebilde. Denn sie sedimentieren so rasch, daß die obere Gegenströmung gewöhnlich gar nicht sichtbar wird. Ab und zu sieht man einzelne oder zusammengeklumpte Erythrozyten an der unteren Deckglaswand festkleben. Einerseits wohl weil das Blutkörperchen überhaupt klebriger ist als ein Bakterium, andererseits weil das schwerere Blutkörperchen mit seiner geringeren spezifischen Oberfläche vom Wasserstrom weniger leicht fortbewegt wird. In der unteren Schicht nun

1) loc. cit.

sieht man besonders zahlreich sedimentierte, an der Objektträgerwand festsitzende Blutkörperchen. Nur die mittlere Schicht zeigt eine deutliche Bewegung, und sie allein kommt ja nur für die Beurteilung des Ladungssinnes in Frage.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe der Methode der mikroskopischen Kataphorese wurde eine Reihe von Bakterien untersucht. Sie zeigten alle eine ausgesprochene Negativität und einen fast völligen Mangel an Umladbarkeit. Durch starke Säurekonzentrationen lassen sie sich entladen, durch dreiwertige Kationen allein umladen. Gegenwart von Pepton macht sie auch durch Säuren umladbar. Sie verhalten sich demnach wie Kaolin nach den Untersuchungen von Gye mant. Von den Elementargebilden des höheren Organismus scheinen nur die Zellkerne gleiche elektrische Eigenschaften zu haben.

Unter der Voraussetzung, daß die durch die Wasserendosmose verursachten Gegenströmungen genügende Berücksichtigung finden, bildet die mikroskopische Kataphoreseuntersuchung eine sehr zuverlässige Methode, wie an einem Beispiel mit Kaseinlösung gezeigt wird. Sie ist wegen ihrer Einfachheit, der Schnelligkeit ihrer Durchführbarkeit, der minimalen Menge des zur Untersuchung notwendigen Materials für viele Fälle der makroskopischen Methode im U-Rohr überlegen.

Zur Entstehung der paradoxen Diphtheriebouillonreaktion beim Menschen.

Entgegnung auf die Mitteilung von Gröer und Kassowitz:
Ueber das Wesen und die Bedeutung der paradoxen Hautempfindlichkeit auf intrakutane Einverleibung von Diphtherietoxin.

Diese Zeitschrift, Bd. 30.

Von G. Bessau (Marburg).

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Juli 1921.)

Ich habe die Aufmerksamkeit auf die Tatsache gelenkt, daß beim Menschen die intrakutane Diphtheriebouillonreaktion durch Antitoxin oft wenig, manchmal gar nicht beeinflusst wird. Schick und seine Mitarbeiter haben diese Reaktionsweise paradox genannt. In Gemeinschaft mit Frl. Dr. Schwenke¹⁾ habe ich das Wesen der paradoxen Reaktion weitgehend geklärt: „der nicht neutralisierbare Anteil der Diphtheriebouillonreaktion kann nicht als Toxinwirkung aufgefaßt werden: er beruht auf einer hitzebeständigen Substanz der Diphtheriebouillon. Mit größter Wahrscheinlichkeit handelt es sich um Diphtherieendotoxinwirkung: Versagen der Antitoxinwirkung, Empfindlichkeit gegen gekochte Diphtheriebouillon und Empfindlichkeit gegen Diphtherieendotoxin, das koktostabil ist, gingen annähernd parallel (Schlußsatz 3 und 4 unserer Arbeit).

v. Gröer und Kassowitz²⁾ kommen nunmehr zu einer im wesentlichen vollständigen Bestätigung unserer Versuche, halten sich aber für berechtigt, unsere Folgerungen als „zweifelloos unrichtig“ hinzustellen. Sie schreiben: „Versteht man unter den Endotoxinen spezifische Giftstoffe, welche im Bazillenleib präformiert sind und auch spezifische Reaktionen auszulösen befähigt sind, so ist die Annahme von Bessau und Schwenke zweifelloos unrichtig. Sonst zeigen aber auch ihre Versuche, daß das Auftreten der paradoxen Reaktion auf Anwesenheit hitzebeständiger Diphtheriebazillenbestandteile in der Toxinbouillon beruht.“

1) Monatsschr. f. Kinderheilk., Bd. 13, 1915, p. 317.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920, p. 154.

Warum unsere Annahme „zweifelloos unrichtig“ ist, wird nicht gesagt; die Kritik fällt aber völlig zusammen durch die eigenen Schlußfolgerungen der Autoren. Sie schreiben unmittelbar vorher:

v. Gröer und Kassowitz.

„Die auf intrakutane Injektion ausgeglichener Diphtherietoxin-Antitoxingemische auftretende entzündliche Reaktion, ebenso wie die positive Diphtherietoxinreaktion bei serum-immunen Individuen, kommt durch nicht streng spezifische Ueberempfindlichkeit mancher Individuen gegen Bakterieneiweiß zustande¹⁾. Sie wird höchstwahrscheinlich durch alkalilösliche Diphtheriebazillenleiberbestandteile, welche in der gewöhnlichen Toxinbouillon enthalten sind, ausgelöst²⁾. Da nun diese Ueberempfindlichkeit erst gegen das Ende des ersten Lebensjahres aufzutreten beginnt und erst im Schulalter häufiger wird³⁾, so ist ein gewisser Zusammenhang zwischen ihrem Auftreten und den im Laufe der Kindheit stattgefundenen Infektionen nicht unwahrscheinlich. Wir stellen uns vor, daß die vorangehenden Infektionen — namentlich die unspezifischen⁴⁾ — bei empfindlichen Individuen sensibilisierend wirken können. Die nun später auf intrakutane Einverleibung aller möglichen Bakterieneiweißstoffe — und vielleicht auch mancher Eiweißstoffe bzw. -spaltungsprodukte nicht-bakterieller Provenienz — auftretenden Ueberempfindlichkeitsercheinungen an der Haut wären als Folge dieser Sensibilisierung aufzufassen⁵⁾. Es ist aber auch in Betracht zu ziehen, daß sämtliche hierbei wirksamen Substrate gewisse primäre Toxizität besitzen und daß daher die bei der Häufigkeit des Vorkommens der genannten Erscheinungen auftretenden individuellen Unterschiede

Kritik:

1) Wir warnen vor dem verwaschenen Begriff der „nicht streng spezifischen Ueberempfindlichkeit“. Alle individuellen Differenzen in der Giftempfindlichkeit können so bezeichnet, keine so geklärt werden. Tatsächlich handelt es sich nicht um „Ueberempfindlichkeit“, sondern um verschiedene Grade von Empfindlichkeit.

2) Das nennen wir Endotoxine.

3) Dies gilt nicht nur für die Diphtherieendotoxin-, sondern auch für die Typhusendotoxinreaktion. Vielleicht ist es ein allgemeines Gesetz, daß ganz junge Kinder auf Endotoxin wenig ansprechen.

4) Doch völlig unbewiesen!

5) Alles völlig unbewiesen. Ich habe bei Sensibilisierung mit verschiedenen Antigenen nacheinander niemals eine derartige unspezifische Sensibilisierung gesehen. Eine Ueberempfindlichkeit gegen Endotoxin gibt es überhaupt nicht; die Vorbehand-

auch nur quantitativer Natur sein können.

lung eines Individuums mit einem Endotoxin führt zur Produktion endotoxinabbauender Immunkörper, demnach stets zu einem Zustande herabgesetzter Empfindlichkeit (ausgedehnte, bisher nicht veröffentlichte Beobachtungen bei der Typhusimmunisierung des Menschen).

Der letzte Satz deckt sich vollständig mit unseren Annahmen. Es handelt sich um eine individuell verschiedene, auch zu verschiedenen Lebenszeiten verschiedene Empfindlichkeit gegen eine primär toxische Substanz des Diphtheriebazillenleibes, die wir eben — der in der Immunitätsliteratur üblichen Nomenklatur folgend — als Diphtherieendotoxin bezeichnet haben. v. Gröer und Kassowitz kommen zu einer vollinhaltlichen Bestätigung unserer Auffassung, erklären dieselbe aber als „zweifellos unrichtig“.

Die Autoren stellen auch einen gewissen Parallelismus zwischen der paradoxen Diphtheriebouillonreaktion und der „Typhin“reaktion fest. Ihre Typhinreaktion ist im Prinzip nichts weiter als eine Reaktion auf das toxische Prinzip der Typhusbazillensubstanz, also des „Typhusendotoxins“. Wären die Autoren bei der alten bewährten Nomenklatur geblieben, so hätten sie selbst erkannt, daß ihre Ergebnisse die denkbar beste Bestätigung unserer bereits vor 5 Jahren festgelegten Auffassung sind.

Ein Unterschied besteht nur in der Bezeichnung — die unserige hat nicht nur die Tradition für sich, sondern ist auch klarer und präziser. Wenn es aber v. Gröer und Kassowitz vorziehen, das Wort „Endotoxin“ zu vermeiden, so erwächst ihnen daraus kein Recht, die sachlich übereinstimmenden, aber mit der alten Bezeichnung belegten Ergebnisse älterer Autoren als „zweifellos unrichtig“ hinzustellen.

Die Streitfrage, ob „Endotoxin“, d. h. eine primär giftige Bazillensubstanz, oder Ueberempfindlichkeit gegen eine primär ungiftige Bazillensubstanz die paradoxe Reaktion bedingt, wird von meinem früheren Mitarbeiter Opitz weiter untersucht. Opitz (Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 94, p. 258) ist bisher zu Ergebnissen gelangt, die meine Auffassung durchaus bestätigen.

615.05 Botany N. H. L.

ZE

V. 32

No 6

UNIVERSITY OF ILLINOIS LIBRARY

DEC 12 1921

Zeitschrift 

für

Immunitätsforschung und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Ball, Prag, E. F. Bashford, London, S. Belfanti, Mailand, A. Breinl, Liverpool, A. Diendoné, München, R. Doerr, Basel, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Hamburg, M. Fieker, Berlin, S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, M. von Gruber, München, L. Haendel, Berlin-Dahlem, M. Hahn, Freiburg i. Br., A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, K. Kibkalt, Kiel, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Frankfurt a. M., W. Kruse, Leipzig, K. Landsteiner, Haag, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, L. Michaelis, Berlin, Mießner, Hannover, C. Moreschi, Sassari, J. Morgenroth, Berlin, R. Muir, Glasgow, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. von Ostertag, Berlin, R. Otto, Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, P. Schmidt, Halle a. S., Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Bern, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welchardt, Erlangen, E. Weil, Prag, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER

(Greifswald.)

R. KRAUS

(Sao Paulo.)

H. SACHS

(Heidelberg.)

P. UHLENHUTH

(Marburg a. L.)

32. Band, Heft 6.

Mit 1 Abbildung im Text.



Jena

Verlag von Gustav Fischer
1921

Ausgegeben am 20. Oktober 1921.

Inhalt:		Seite
Sato, Kunio, Experimentelle Beiträge zur Vakzineimmunität		481
Putter, Erich, Untersuchungen über Bakterienkataphoresis. Mit 1 Abbildung im Text		538
Bessau, G., Zur Entstehung der paradoxen Diphtheriebouillonreaktion beim Menschen. Entgegnung auf die Mitteilung von Gröer und Kassowitz: Ueber das Wesen und die Bedeutung der paradoxen Hautempfindlichkeit auf intrakutane Einverleibung von Diphtherietoxin. Diese Zeitschrift, Bd. 30		558
Titel und Inhalt zu Bd. 32.		

Die außerordentlich hohen Korrekturkosten zwingen uns, die Herren Mitarbeiter zu bitten, ihre Manuskripte gut leserlich abzufassen und vor Einreichung genau durchzusehen, d. h. druckfertig abzuschließen, so daß sachliche Aenderungen soweit als nur irgend möglich vermieden werden.

Die Herausgeber.

Die Verlagsbuchhandlung.

Meerschweinchen, Kaninchen, bunte Ratten, weiße Mäuse, Frösche

liefert jeden Posten

A. Seyer, Berlin N. 54, Ackerstraße 19

Export. — Import

Trockennährböden „BRAM“

hergestellt nach patentiertem Verfahren in Pulverform
aus **Fleisch, Pepton, „Witte“ u. Agar-Agar.**

Ab Lager in jeder Menge lieferbar:

**Nähr-Bouillon, Nähr-Agar, Nähr-Gelatine
und die meisten Spezialnährböden.**

Die Trockennährböden ergeben nach vor-
schriftsmäßigem Auflösen in Wasser den
gebrauchsfertigen Nährboden.

Chem. Fabrik u. Seruminstitut „BRAM“

G. m. b. H.

O E L Z S C H A U bei Leipzig.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Die angegebenen Preise sind die im Nov. 1921 gültigen; für das Ausland erhöhen sie sich durch den vorgeschriebenen Valuta-Zuschlag.

Soeben erschien:

**Verhandlungen
der Deutschen pathologischen Gesellschaft.**

Achtzehnte Tagung

gehalten in Jena am 12. bis 14. April 1921.

Im Auftrage des Vorstandes herausgegeben von dem derzeitigen Schriftführer
M. Simmonds in Hamburg.

Ergänzungsheft zum „Centralbl. für allgem. Pathologie u. pathol. Anatomie“, Bd. 31.)

Mit 79 Abbild. im Text. 1921. (X, 354 S. gr. 8°.)

Preis: 60 Mark,

für Abonnenten des Centralbl. f. Pathologie **45 Mark.**

Frühere Verhandlungen:

6. **Tagung**, gehalten in **Kassel** vom 21.—25. Sept. 1903. Mit 7 Abbild. im Text u. 7 Tafeln. (V, 272 S. gr. 8°.) 1904. Mk 40.—
7. **Tagung**, gehalten in **Berlin** vom 26.—28. Mai 1904. (IV, 267 S. gr. 8°.) } Zwei
8. **Tagung**, gehalten in **Breslau** vom 18.—21. Sept. 1904. (IV, 194 S. gr. 8°.) } Hefte
Mit 42 Abbild. im Text, 1 Textkurve und 9 Tafeln. 1904/05. Mk 80.—
9. **Tagung**, gehalten in **Meran** vom 24.—27. Sept. 1905. Mit 18 Abbild. im Text und 15 Tafeln. (VII, 360 S. gr. 8°.) 1906. Mk 76.—
10. **Tagung**, gehalten in **Stuttgart** vom 17.—21. Sept. 1906. Mit **Gesamtregister zu Tagung 1—10.** Mit 13 Abbild. im Text u. 9 Tafeln. (VIII, 344 S. gr. 8°.) 1907. Mk 56.—
11. **Tagung**, gehalten in **Dresden** vom 16.—19. Sept. 1907. Mit 33 Abbild. im Text und 9 Tafeln. (VIII, 386 S. gr. 8°.) 1908. Mk 64.—
12. **Tagung**, gehalten in **Kiel** vom 23.—25. April 1908. Mit 27 Abbild. im Text u. 20 Taf. (VIII, 334 S. gr. 8°.) 1908. Mk 64.—
13. **Tagung**, gehalten in **Leipzig** vom 15.—17. April 1909. Mit 55 Abbild. im Text und 32 Tafeln. (X, 436 S. gr. 8°.) 1909. Mk 72.—
14. **Tagung**, gehalten in **Erlangen** vom 4.—6. April 1910. Mit 40 Abbild. im Text und 21 Tafeln. (X, 386 S. gr. 8°.) 1910. Mk 56.—
15. **Tagung**, gehalten in **Straßburg** vom 15.—18. April 1912. Mit **Generalregister zu Tagung 11—15 (1907—1912).** Mit 54 Abbild. im Text und 28 Tafeln. 1912. Mk 80.—
16. **Tagung**, gehalten in **Marburg** vom 31. März—2. April 1913. Mit 163 Abbild. im Text und 9 Tafeln. 1913. Mk 60.—
17. **Tagung**, gehalten in **München** vom 23.—25. März 1914. Mit 157 Abbild. im Text und 16 Tafeln. (X, 619 S. gr. 8°.) 1914. Mk 96.—
- , **Kriegspathologische Tagung in Berlin** am 26. u. 27. April 1916. Mit 2 Abbild. im Text und 1 Tafel. (IV, 84 S. gr. 8°.) 1916. Mk 12.—

**Vorzugspreis für 6.—17. und kriegspathologische Tagung:
Mark 557.— (statt Mark 756.—)**

Veröffentlichungen aus der Kriegs- und Konstitutionspathologie.

Mit Unterstützung des Reichsarbeitsministeriums
herausgegeben von

L. Aschoff, Freiburg i. Br., **M. Borst**, München, **M. B. Schmidt**, Würzburg,
L. Pick, Berlin

geleitet von

W. Koch, Regierungsmedizinalrat, Vorsteher der kriegs- und konstitutionspathologischen Sammlung der Kaiser Wilhelms-Akademie, Berlin.

1. Heft: **Skorbut**. Von **L. Aschoff**, Generaloberarzt und **W. Koch**, Stabsarzt. Mit 6 Abbildungen im Text und 13 Tafeln. (VIII, 121 S. gr. 8^o.) 1919. Mk 68.—

2. Heft: **Zur Frage der „Aorta angusta“**. Ein Beitrag zu den Normalmaßen des Aortensystems. Von **Luise Kaufmann**. (34 S. gr. 8^o.) 1919. Mk 6.80

3. Heft: **Die Thrombose nach Kriegsverletzungen**. Von Professor Dr. **A. Dietrich**, Direktor des pathologischen Instituts der Universität Köln. Mit 6 Abbildungen im Text und 2 Tafeln. (85 S. gr. 8^o.) 1920. Mk 27.—

4. Heft: **Beziehungen zwischen Nebennieren und männlichen Keimdrüsen**. Von Dr. **Ernst Leupold**, Privatdozent, Prosektor und 1. Assistent am pathol. Inst. der Universität Würzburg. (III, 62 S. gr. 8^o.) 1920. Mk 12.—

Die bisherigen Untersuchungen und Beobachtungen lassen Beziehungen zwischen Nebennieren und Keimdrüsen nur vermuten. Die Arbeiten des Verfassers versuchen, eine sichere anatomische Basis für die Frage zu schaffen, ob Nebennieren und Keimdrüsen in bestimmtem Verhältnis zu einander stehen.

5. Heft: **Die Kriegsverletzungen des Herzens**. Von Dr. **Hans-Walther Giercke**, Berlin. Mit 14 Abbildungen im Text. (83 S. gr. 8^o.) 1920. Mk 27.—

Soeben sind erschienen:

6. Heft: **Untersuchungen über die „Norm“**. Ihre Bedeutung und ihre Bestimmung. Von Privatdozent Dr. med. et phil. **Herm. Rautmann**, Assistent der medizinischen Universitäts-Klinik in Freiburg i. Br. Mit 9 Abbildungen im Text und 6 Tabellenbeilagen. (X, 115 S. gr. 8^o.) 1921. Mk 30.—

7. Heft: **Ueber die russisch-rumänische Kastratensekte der Skopzen**. Von Privatdozent Dr. **Walter Koch**, Berlin. Mit 33 Abbildungen auf 12 Tafeln. (39 S. gr. 8^o.) 1921. Mk 27.—

8. Heft: **Die Unterbindung am Hoden und die „Pubertätsdrüsenlehre“**. Von Dr. **Hans Tiedje**, Freiburg i. Br. Mit 1 Tafel und 1 Schema. (26 S. gr. 8^o.) 1921. Mk 10.—

9. Heft: **Beitrag zur Atrophie des menschlichen Hodens**. Von Dr. **K. Goette**, Freiburg i. Br. (VI, 28 S. gr. 8^o.) 1921. Mk 7.50

Digitized by

Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA



3 0112 027689659

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN